

**Aicha
DEKAR-MADOU**

**Hacina
CHALLAM-BENZINE**

Cytologie & Physiologie Cellulaire

Complément du fascicule **1**
Illustrations et questions

**Première année des Sciences Médicales,
Biologiques et Vétérinaires**

**Aicha
DEKAR-MADOU**

**Hacina
CHALLAM-BENZINE**

Cytologie & physiologie cellulaire

Première année des Sciences Médicales,
Biologiques et Vétérinaires

Avant propos

Au vu de la multiplicité des méthodes d'investigation de la cellule, la biologie cellulaire est devenue la discipline scientifique la plus dynamique. D'innombrables informations d'appoint viennent constamment étayer les hypothèses et améliorer notre connaissance des processus cellulaires.

Dans ce contexte, au fil des années d'enseignement du module de cytologie et physiologie cellulaire, un ajustement intégral ou partiel de certains chapitres des fascicules édités par l'O.P.U. en 2005 s'est imposé.

Le présent ouvrage se veut un complément enrichi par un texte explicatif précis illustré par une iconographie abondante et actualisée.

Quelques questions d'examens y ont été intégrées. Elles permettront à l'étudiant de s'imprégner de certaines modalités d'examination.

Cette première initiative sera suivie de deux autres nouveaux compléments se rapportant aux fascicules 2 et 3.

ORGANISATION GENERALE DE LA CELLULE

INTRODUCTION

La cellule correspond à la plus petite unité constitutive et fonctionnelle de tout être vivant. Elle synthétise l'ensemble ou presque de ses constituants en utilisant les éléments du milieu extracellulaire; elle croît et se multiplie.

Il existe deux organisations fondamentales des cellules: les Procaryotes et les Eucaryotes. Les Virus échappent à ces deux organisations et forment ainsi un groupe à part.

1. APERCU GENERAL SUR L'ULTRASTRUCTURE DE LA CELLULE EUCARYOTE

Les organismes Eucaryotes peuvent être unicellulaires telles que les paramécies et les amibes, constitués d'une seule cellule libre et mobile représentant à elle seule la totalité de l'organisme.

L'Homme, les animaux et les végétaux (au sens strict) sont des êtres pluricellulaires constitués d'une grande variété de types cellulaires (au moins 200 types chez l'homme). Ces cellules assurent des fonctions spécifiques et présentent des tailles variables comprises en moyenne entre 10 et 100 μm .

La cellule Eucaryote est délimitée extérieurement par une membrane plasmique qui sépare son milieu intracellulaire ou cytoplasme du milieu extracellulaire (matrice extracellulaire) (*Schéma 1*).

Le cytoplasme est défini comme étant l'ensemble **protoplasme** et **hyaloplasme**:

- le **protoplasme** désigne les **organites cellulaires** représentés par: le système endomembranaire qui comprend (l'enveloppe nucléaire, le réticulum endoplasmique lisse et granulaire, l'appareil de Golgi, les lysosomes, les diverses vésicules et les endosomes), les mitochondries, les peroxysomes, les ribosomes, le centre cellulaire composé de deux centrioles et le noyau lui-même composé de l'enveloppe nucléaire, la chromatine et nucléole.

- le **hyaloplasme** ou **cytosol** correspond au milieu **liquide** dans lequel baignent tous ces organites, ce milieu est riche en protéines et certaines d'entre elles ont la propriété de s'assembler pour former les éléments cytosquelette.

2. ULTRASTRUCTURE DE LA CELLULE BACTERIENNE

Les organismes Procaryotes sont des **microorganismes** généralement unicellulaires; ils sont essentiellement représentés par les **bactéries**.

Les bactéries peuvent se présenter sous différentes **formes**: en **bâtonnet**, **sphérique**, **filamenteuses**, **spiralée** ou **incurvée**. Elles vivent souvent groupées formant des colonies. Elles sont caractérisées par une taille réduite (**1 à 10 μm**) et un mode de **reproduction** par **scissiparité** (étranglement).

La microscopie électronique révèle que la cellule bactérienne est constituée de structures **permanentes** (essentielles) présentes chez toutes les espèces bactériennes et de structures **inconstantes** (facultatives) présentes chez quelques espèces (*Schéma 2*).

facultative

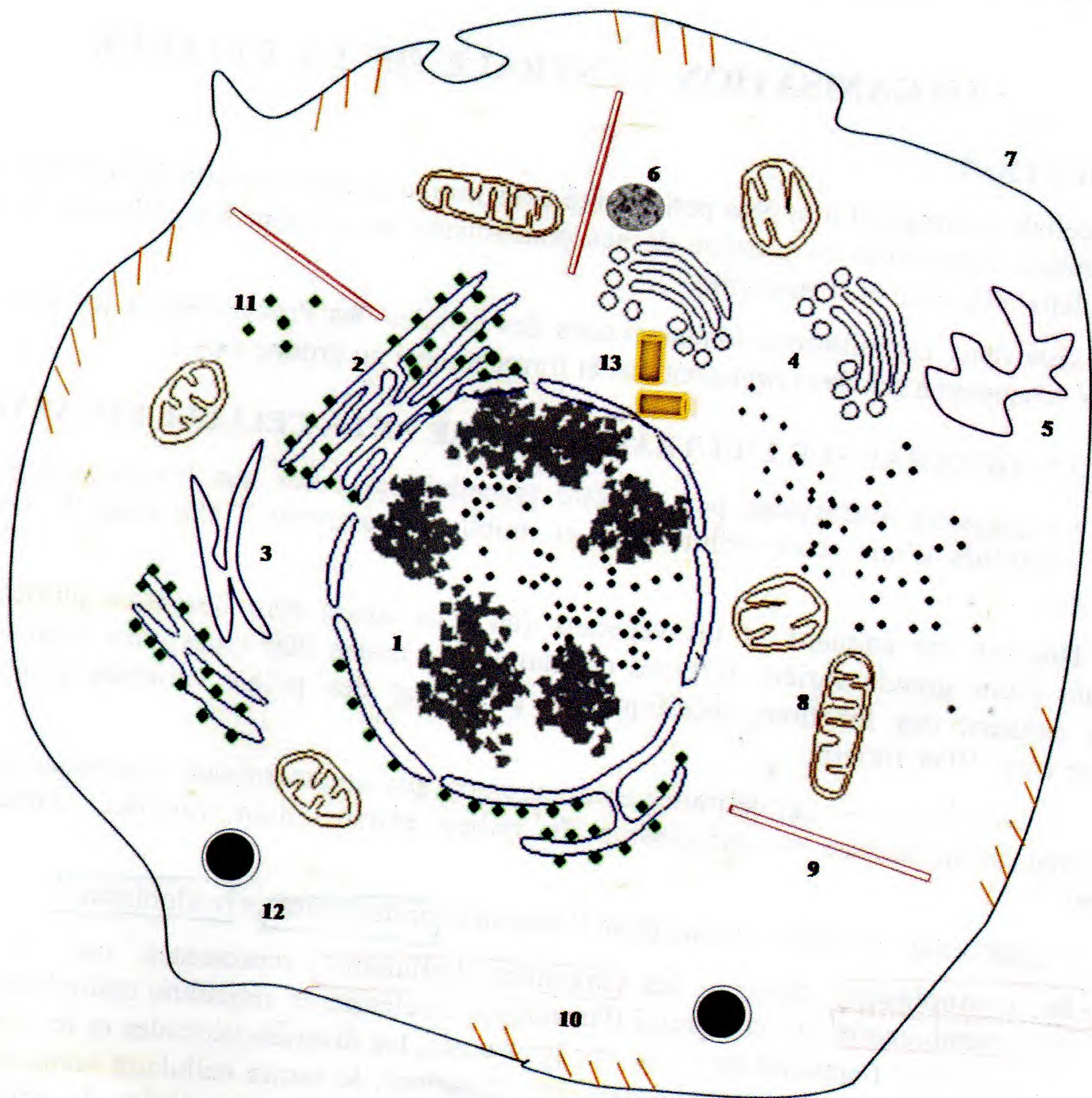


schéma de l'ultrastructure

Schéma 1: Ultrastructure de la cellule eucaryote animale

1. Noyau, 2. Réticulum endoplasmique granulaire, 3. Réticulum endoplasmique lisse, 4. Dictyosome, 5. Endosome, 6. Lysosome, 7. Membrane plasmique, 8. Mitochondrie, 9. Microtubules, 10. Microfilaments d'Actine (cortex sous membranaire), 11. Ribosomes, 12. Grains de sécrétion, 13. Centre cellulaire.

2.1 Les structures constantes

● **Le matériel nucléaire ou nucléoïde** est formé d'une seule molécule bicaténaire d'ADN circulaire d'une longueur voisine de 1mm représentant le chromosome bactérien. N'étant pas séparé du cytoplasme par une membrane l'ADN constitue de ce fait une véritable plate-forme de la recherche génétique moderne.

● **Les ribosomes** sont souvent groupés en amas (polyribosomes); ils diffèrent de ceux des eucaryotes par leur morphologie, leur coefficient de sédimentation et leur composition chimique. Leur biosynthèse se déroule directement dans le cytosol (voir chapitre VI).

La MP des Procaryotes est dépourvue du cholestérol et pauvre en glucide.

La membrane plasmique est composée comme celle des eucaryotes de lipides et de protéines à des pourcentages différents; elle en diffère par **l'absence de cholestérol** et la **pauvreté en glucides**. Elle assure le transport des nutriments.

La paroi (parietis qui veut dire mur), est une **enveloppe rigide** qui **limite** extérieurement la bactérie et détermine sa **forme**. Elle **contrôle** les échanges avec le milieu extérieur et **protège** la bactérie **des chocs osmotiques** (une bactérie qui n'a pas de paroi **meurt**).

En bactériologie médicale la coloration de GRAM¹ (microscopie photonique) permet de distinguer les bactéries à **paroi non colorable**, dites **GRAM négatives** de celles dont la paroi se colore dites **GRAM positives**. Cette différence est liée à leur **composition chimique**: les GRAM⁺ ont une **paroi épaisse** (20 à 80 nm) et **dense** formée de **peptidoglycanes** (chaînes glucidiques reliées entre elles par des peptides) auquel s'associent **des acides teichoïques** et **lipoteichoïques**. Ainsi, elle se présente sous forme d'un **réseau résistant** appelé **muréine**. Les **GRAM⁻** ont une paroi **moins épaisse** formée d'une couche de **peptidoglycanes fine** (10 à 20 nm) et lâche recouverte d'une bicouche lipoprotéique riche en LipoPolySaccharides (**LPS**) dite membrane externe. Dans ce cas, la paroi est séparée de la membrane plasmique par un espace appelé **espace périplasmique** (Schéma 3).

toutes les bactéries peuvent faire la sporulat°.

Remarque: Certaines bactéries ~~quant~~ telles que **Bacillus** et **Clostridium** sont capables de **sporulation**: les spores formées constituent une **forme de résistance** qui permet à ces bactéries de **survivre** dans des **conditions extrêmes**.

Les structures facultatives

La capsule d'épaisseur **variable** (0.2 à plusieurs μm), est mise en évidence en microscopie **photonique**, par coloration à l'encre de **chine**. Lorsqu'elle existe, elle **recouvre** la **paroi** et représente ainsi la **structure la plus externe**. La **capsule** est souvent **polysaccharidique** parfois **polypeptidique**. Sa présence est un signe de virulence car elle protège la bactérie de la **phagocytose**, elle est également **antigénique**.

Les plasmides sont des **fragments d'ADN** extrachromosomiques à **double brins**, **circulaires** et localisés dans le cytoplasme. Leur réplication est indépendante de celle du chromosome bactérien; de ce fait un plasmide peut être présent en plusieurs copies dans une seule cellule bactérienne. Les plasmides **codent** pour la synthèse de différentes **enzymes conférant** ainsi à la bactérie qui les possède des caractères particuliers telle que la **possibilité d'utiliser certains substrats** ou la **résistance aux antibiotiques**. Les plasmides sont **transmissibles** à d'autres bactéries par un processus dit **«conjugaison bactérienne»**.

Re : muréine est spécifique juste pour les paroi gram⁺ seulement.

¹ La coloration de GRAM : après fixation des bactéries sur une lame microscopique, on traite la préparation par un premier colorant : "le violet de gentiane" puis, on mordance par une solution de lugol. A ce stade, toutes les bactéries apparaissent en violet. On lave la préparation avec de l'alcool qui décolore les seules bactéries à paroi fine qui ne sont donc plus visibles. On surcolore par de la fuchsine (colorant rouge) qui recoloré les bactéries décolorées. Après coloration de Gram, les bactéries à paroi épaisses sont colorées en violet : elles sont dites "à Gram positif", les bactéries à paroi fine sont colorées en rouge : ce sont les bactéries "à Gram négatif".

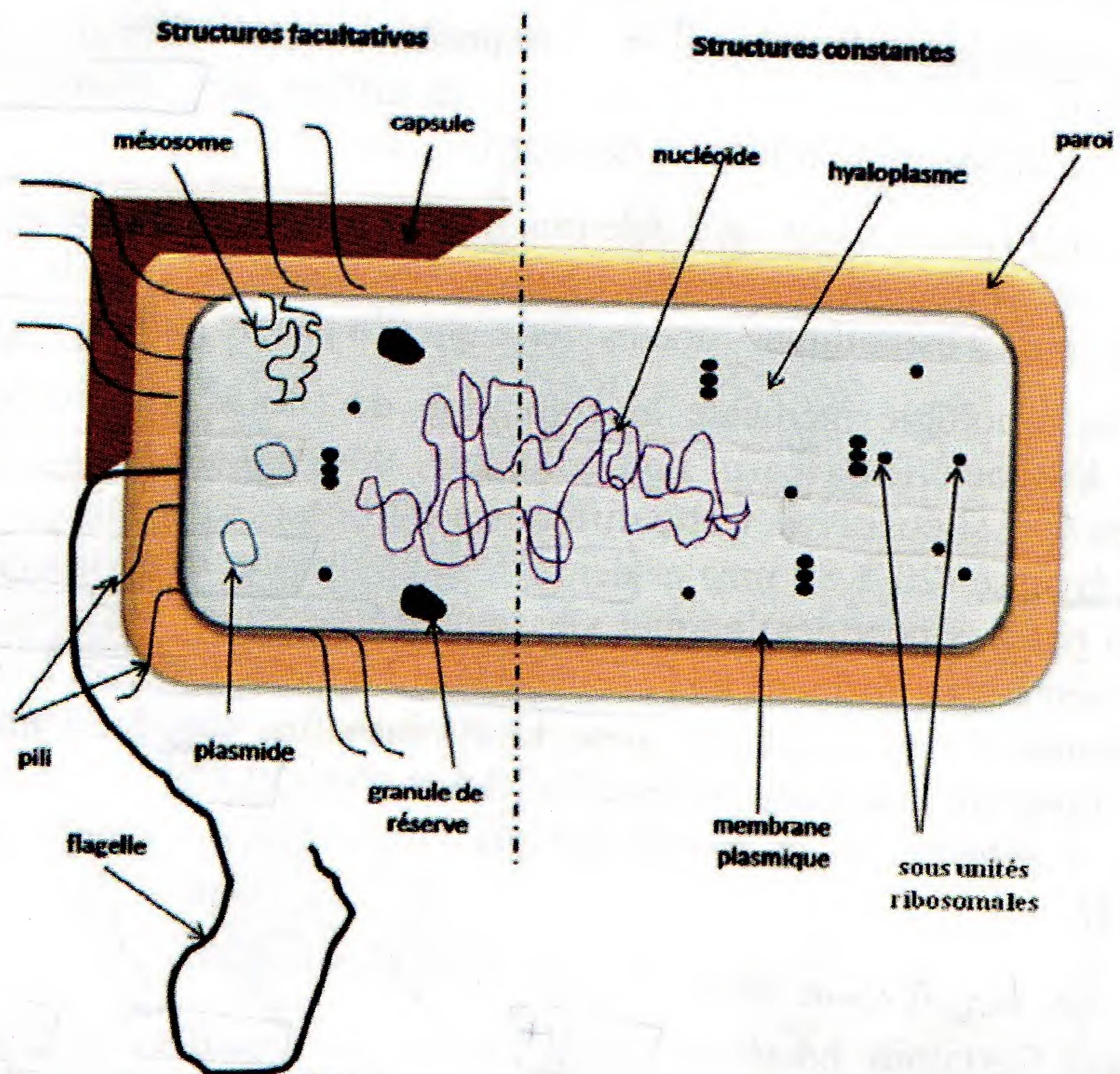


Schéma 2: Ultrastructure de la cellule bactérienne

Les mésosomes sont des invaginations profondes de la membrane plasmique riches en protéines enzymatiques dont le rôle exact est inconnu.

Les mésosomes ont parfois été observés au contact du matériel nucléaire ce qui a fait envisager leur implication dans la réplication du génome.

Chez les bactéries aérobies, il semblerait que les protéines de transport des électrons se regroupent au niveau des mésosomes ce qui a fait proposer leur intervention comme chaîne respiratoire assurant ainsi, la fonction des mitochondries absentes dans les cellules bactériennes.

Actuellement, l'existence des mésosomes est discutée. De nombreux bactériologistes pensent que ce sont des zones de la membrane plasmique plus fragiles qui donnent cet aspect suite aux procédés préparatoires des échantillons.

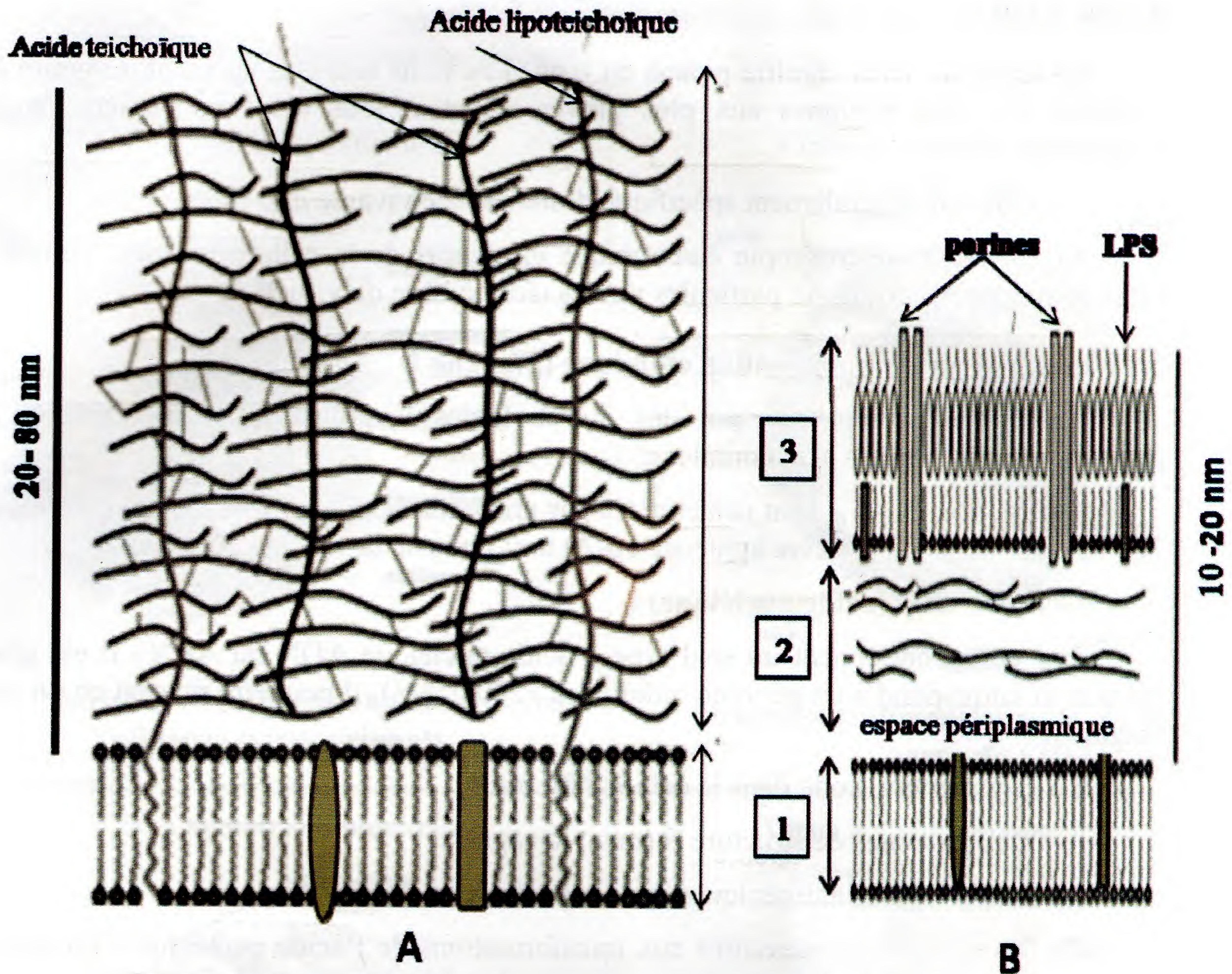


Schéma 3 : Composition moléculaire des parois bactériennes

A. Gram⁺, B. Gram⁻, 1. Membrane plasmique, 2. Couche de peptidoglycane, 3. Membrane externe

Le flagelle est une **expansion membranaire** mobile dont le nombre (1 à 8) et les positions varient selon les espèces bactériennes. Les flagelles sont visibles en **microscopie photonique**. Ils sont constitués d'une protéine contractile : **la flagelline**.

Les pili (poils) plus courts que les **flagelles** sont des expansions membranaires visibles uniquement au **microscope électronique**. Certains pili sont dits somatiques ou communs, nombreux, ils assurent l'**adhésion** aux substrats et particulièrement aux muqueuses. Ils sont formés d'une protéine dite piline. D'autres sont sexuels, peu nombreux, ils interviennent dans les échanges de matériel génétique lors de la conjugaison bactérienne.

Les inclusions cytoplasmiques apparaissent soit sous forme de **réserves énergétiques** de **glycogène** et de **lipides**, ou de vacuoles à gaz permettant le déplacement vertical des bactéries qui les renferment.

3. LES VIRUS

Le terme de virus signifie poison en latin. Les virus sont des agents d'un grand nombre de maladies des plus bénignes aux plus graves affectant tous les êtres vivants Procaryotes et Eucaryotes.

Un virus est généralement spécifique d'une espèce vivante dite espèce hôte.

Visualisés en microscopie électronique en dehors de la cellule infectée (cellule hôte), les virus sont appelés virions ou particules virales (forme libre du virus).

3.1 Ultrastructure et composition chimique (*Planche I*)

Forme : les virus adoptent des morphologies variables selon les espèces: sphérique, polyédrique, filamenteuse ou complexe.

Taille : Les virions sont caractérisés par une taille extrêmement réduite comprise entre 15-300 nm. Ex: virus de la fièvre aphteuse 15-20 nm; virus de la vaccine 300 nm....

Génome viral (acide nucléique) :

Les virus contiennent un seul type d'acide nucléique ADN ou ARN ; il est généralement linéaire et correspond à un génome réduit (1 à 1200 gènes). Il peut être présent en un ou plusieurs fragments.

Le génome viral code dans la cellule hôte pour :

- des protéines de structure formant la capside,
- des protéines antigéniques de la capside et ou de l'enveloppe,
- des enzymes nécessaires aux transformations de l'acide nucléique viral dans la cellule hôte telle que la transcriptase réverse chez les virus à ARN

Capside: L'acide nucléique est protégé par une structure protéique nommée capside dont l'arrangement des sous unités dites capsomères détermine la symétrie du virus. On distingue ainsi les:

- Virus à **symétrie cubique** ou icosaédrique: la capside a la forme d'un polyèdre régulier à 20 faces conférant grossièrement une allure sphérique au virus (v.poliomyélite, v.hépatite A et B, v.rubéole, v.herpès, v.fièvre jaune...).
- Virus à **symétrie hélicoïdale**: l'acide nucléique s'enroule en hélice au sein d'une capside en forme de cylindre creux conférant une forme en bâtonnet ^{à la nucléocapside} au virus (virus des oreillons, virus de la rougeole, virus grippal, virus de la mosaïque du tabac...).
- Virus à **symétrie complexe**: ces virus possèdent une capside à symétrie mixte c'est le cas des bactériophages qui ont une tête icosaédrique liée à une queue hélicoïdale à laquelle sont attachés des poils et des fibres caudales.

L'ensemble capside et acide nucléique forme une **nucléocapside** (NC).

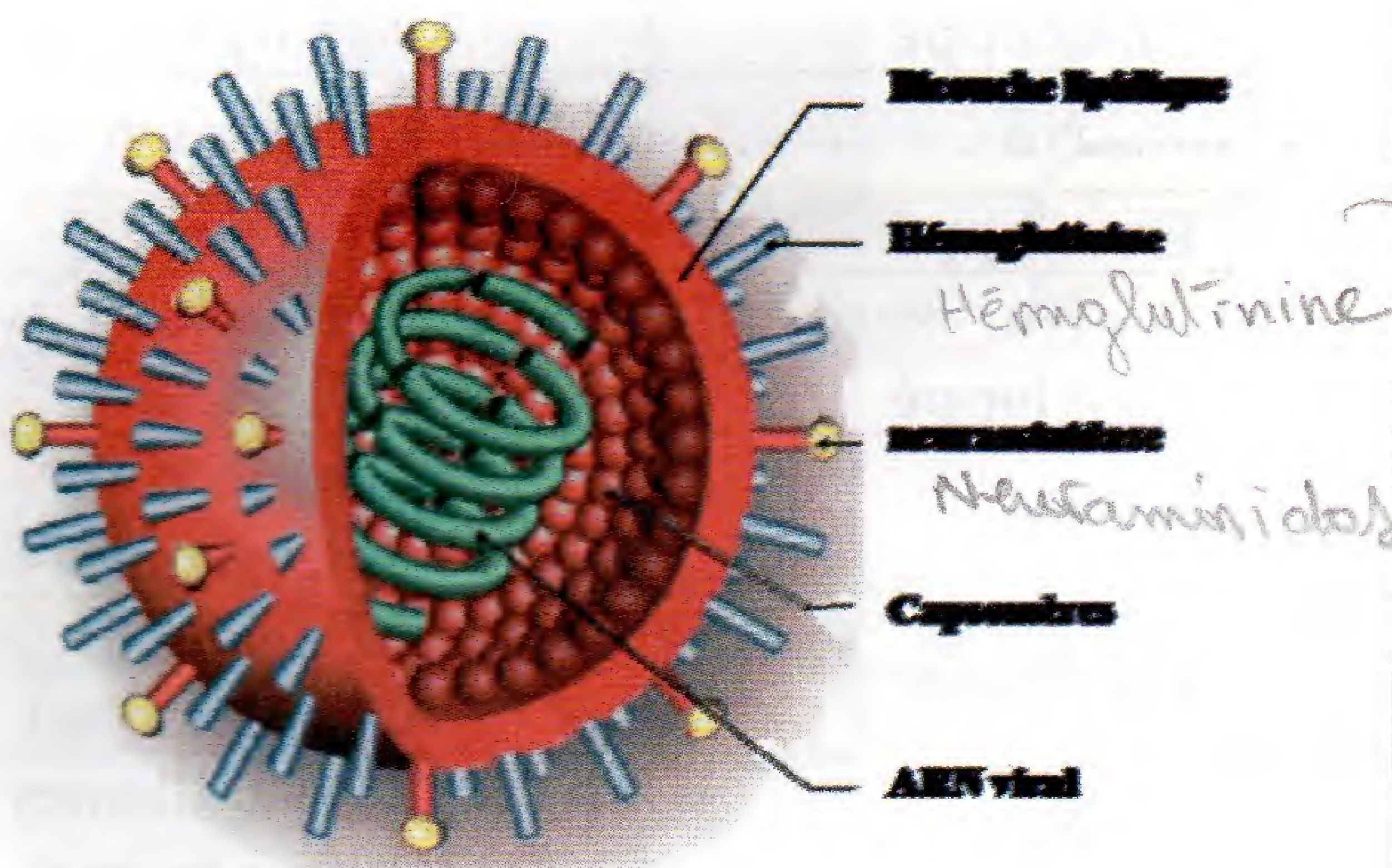
Remarque : La forme du virus ne détermine pas sa symétrie et inversement.

Enveloppe : La capside est parfois entourée d'une **enveloppe** de **nature membranaire** composée de **phospholipides** et de **protéines** associés à des **glucides**.

Les virus possédant une enveloppe sont dits enveloppés. Les virus ne possédant pas d'enveloppe sont dits nus; dans ce cas la particule virale se résume en une nucléocapside.

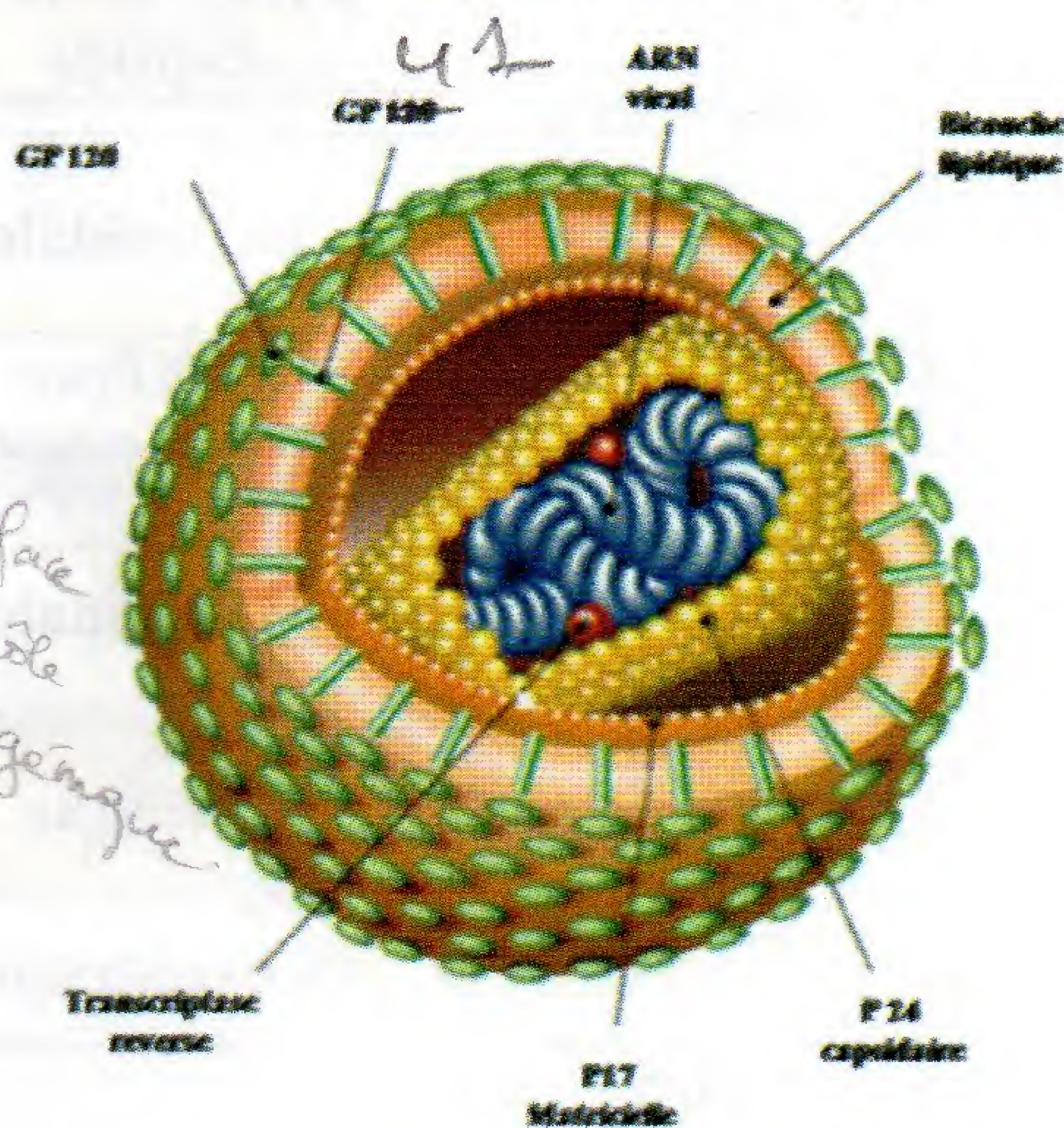
Remarque : Les virus affectant l'homme sont constitués de gènes très proches des gènes des cellules humaines (et non des gènes bactériens).

Virus à symétrie hélicoïdale



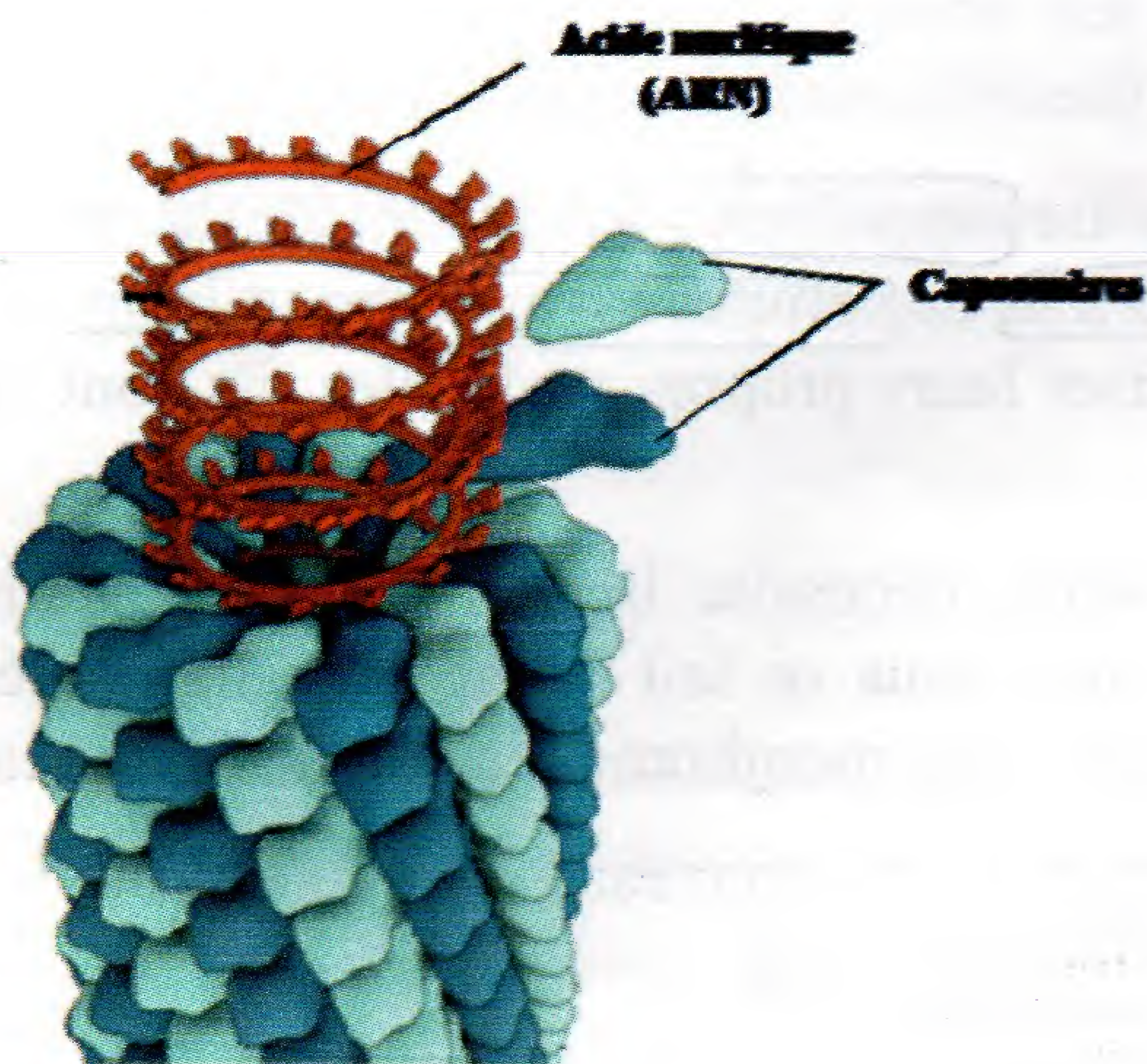
Structure tridimensionnelle du virus Influenza (virus grippal)

Virus à symétrie cubique



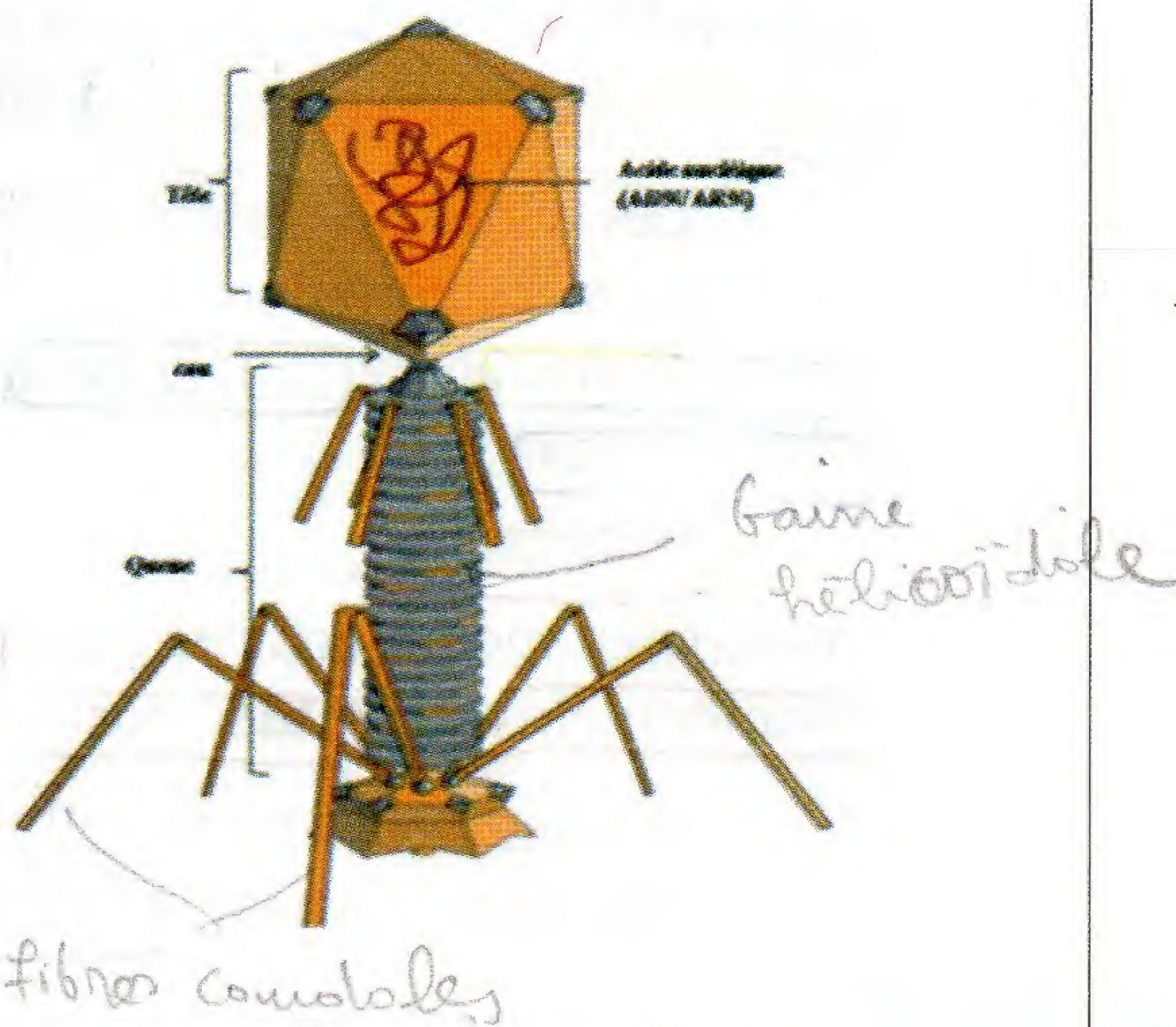
Structure tridimensionnelle du HIV (virus du SIDA)

Virus à symétrie hélicoïdale



Structure tridimensionnelle du TMV (Virus de la mosaïque du tabac)

Virus à symétrie complexe



Structure tridimensionnelle d'un Bactériophage

Planche I: Organisation structurale de quelques virus

3.2 Classification

Trois critères ont été proposés par Lwoff & coll. en 1960 pour classer les virus. Ces critères restent valables à ce jour (**Tableau ci- après**):

- 1) la nature de l'acide nucléique : DNA ou RNA
- 2) la symétrie de la nucléocapside : hélicoïdale, cubique (icosaédrique) ou complexe
- 3) la présence ou l'absence de l'enveloppe : virus enveloppé ou virus nu.

Tableau I : Classification de quelques virus

Nature de l'acide nucléique	Symétrie de la capside	Présence ou absence de l'enveloppe	Exemples
ARN	Hélicoïdale	Enveloppé	V. Grippal ✓ + Ebola
		Nu	TMV (Mosaïque du tabac) ✓
	Cubique (Icosaédrique)	Enveloppé	HIV ✓ Hépatite C
		Nu	V. Hépatite A ✓
ADN	Hélicoïdale	Enveloppé	Vaccin V. Ebola à ARN
		Nu	Polyome virus (V. oncogénique) x
	Cubique (Icosaédrique)	Enveloppé	V. Hépatite B ✓ V. oncogénique
		Nu	V. des Papillomes (V. oncogénique) x
ADN	Complexe	Enveloppé	V. de la variole (ADN)
ou ARN		Nu	Bactériophages ✓

3.3 Mode de reproduction

Les virus possèdent un mode particulier de reproduction différent de la mitose ou de la scissiparité bactérienne. Ils se répliquent à l'intérieur de cellules vivantes en utilisant la machinerie enzymatique de la cellule hôte, afin de synthétiser leurs propres molécules; ils sont dits parasites obligatoires.

L'infection d'une cellule saine par un virus, nécessite la fixation de ce dernier sur des molécules membranaires dites récepteurs. Ce processus se fait selon deux modalités: la fusion membranaire ou l'endocytose par récepteurs (voir cours membrane plasmique / perméabilité).

A l'intérieur de la cellule hôte, la production de nouveaux virus se produit selon deux modalités de cycle viral : cycle lytique ou cycle lysogénique.

Lytique

Dans le premier cas, l'introduction du génome viral conduit à la production des composants viraux puis leur assemblage en nouveaux virus, suivi de leur expulsion par lyse de la cellule porteuse: c'est le cas du virus grippal et du bactériophage T.

Lysogénique

Dans le second cas, le génome viral s'insère d'abord à l'ADN de la cellule hôte. Cette étape peut durer de nombreuses années sans altérer la cellule. Ce n'est que sous l'action de facteurs inducteurs exogènes ou endogènes, que le provirus se détache du génome cellulaire pour rentrer dans un cycle lytique c'est le cas du VIH et du Bactériophage λ.

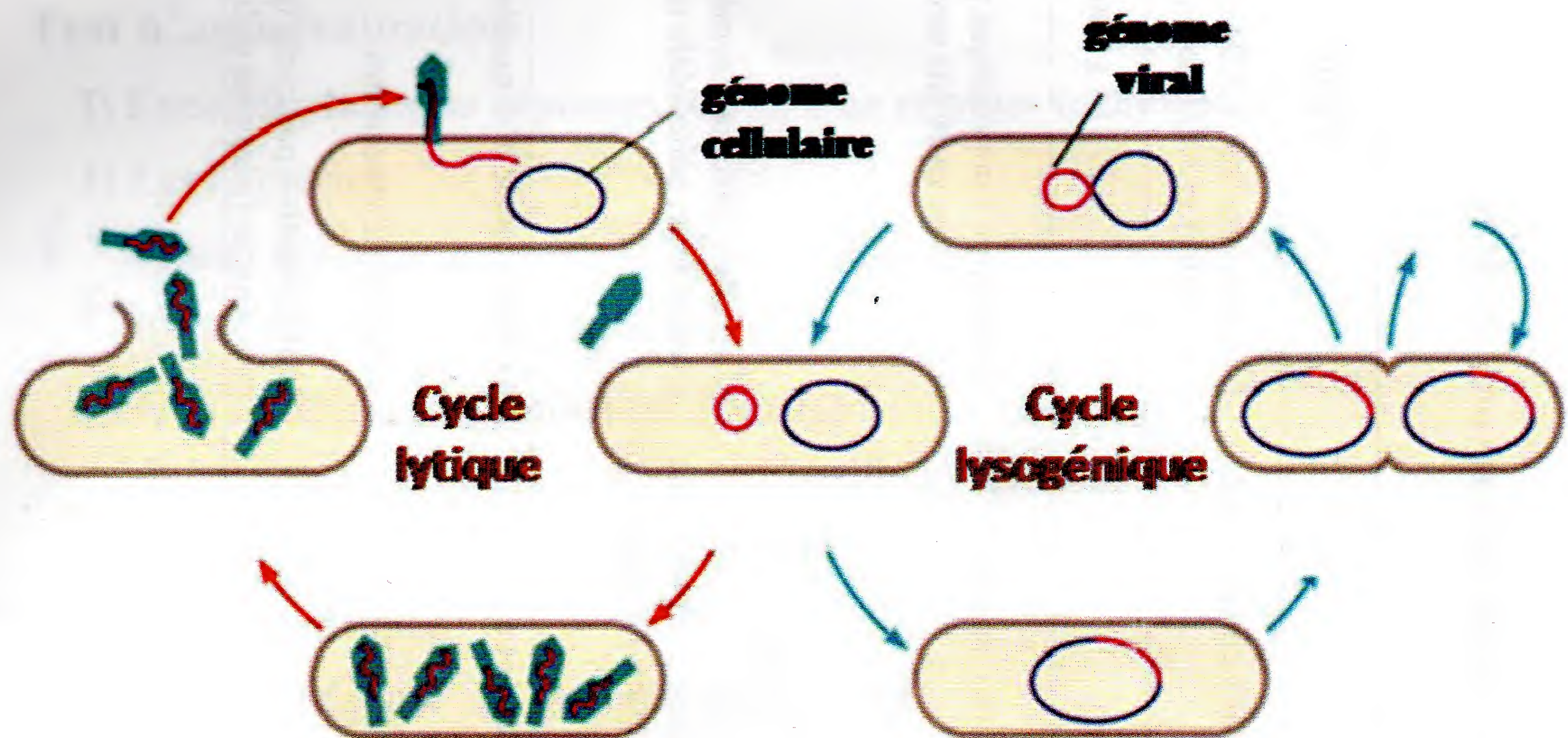


Schéma 4 : Les modalités de développement des virus au sein des cellules hôtes: Cas du bactériophage λ .

Remarque : Lorsque le virion comporte des gènes inducteurs de cancer, toute cellule infectée sera transformée en cellule tumorale (cancéreuse): on parle de virus oncogène.

Ex : virus de l'hépatite B, Virus d'Epstein-Barr, virus de l'herpès...

Tableau II. Principaux caractères différentiels entre eucaryotes, procaryotes et virus

Caractères	Eucaryotes	Bactéries	Virus
Génome	Plusieurs molécules d'ADN linéaires limitées par une enveloppe nucléaire	1 molécule ADN circulaire / nucléoïde chromosome et plasmide (s) libres	Linéaire, morcelé à ADN (mono ou bicaténaire) et ARN libre (s)
Dimensions	10 à 100 μm	1 à 10 μm	15 à 300 nm
Limite(s) structurantes	Cellule animale: .Membrane plasmique lipoprotéique riche en cholestérol et glucides	Gram⁺: Paroi de peptidoglycane (muréine) épaisse (20 à 80 nm) Membrane plasmique lipoprotéique Gram⁻: Paroi composée d'une membrane externe lipopolysaccharidique, fine couche de peptidoglycane (1 à 3 nm) et espace périplasmique Membrane plasmique sans cholestérol et pauvre en glucides	Enveloppe lipoprotéique présente chez certains virus dits enveloppés Capside protéique à symétrie icosahédrique, hélicoïdale ou complexe
	Organites membranaires et cytosquelette	Absence d'organites membranaires et de cytosquelette	Absence totale d'organites
Particularités	Ribosomes: synthétisés dans le nucléole.	Ribosomes: synthétisés dans le hyaloplasme	Absence de ribosomes
	Multiplication par mitoses et méioses	Multiplication par scissiparité	Multiplication par cycle lytique ou lysogénique (parasites obligatoires)

Test d'autoévaluation

I) Encercler la ou les réponses justes. Une réponse incomplète = 0 pt.

1) Les bactéries

- ☒ a) sont des organismes souvent unicellulaires *est le cas de souvent c fait*
☐ b) ont une paroi teïchopeptidique **F**
☒ c) certaines sont parasitées par les virus **V**
☒ d) ont une membrane plasmique tristratifiée **V**
☒ e) leur génome est révélé par la RMN *RMN = cytoplasmique*

2) Le virus grippal

- ☐ a) est une cellule obligatoirement parasite **F**
☒ b) possède des hémagglutinines antigéniques **V** *protéines antigéniques sur la paroi du grippal*
☐ c) présente une nucléocapside cubique **F**
☒ d) est observé au MET après coloration négative **V**
☒ e) son génome code pour les Neuraminidases **V** *[il code pour ttes les protéines virales]*

II) Répondre par vrai ou faux. Une réponse erronée annule une réponse correcte.

- la paroi des bactéries Gram⁻ sont pauvres en peptidoglycanes et riches en lipides **V**
- la capsule est toujours de nature polysaccharidique **F** *est polyséptidique*
- Chez les bactéries, l'antigénécité est déterminée par la capsule ou la paroi **V**
- La coloration de Gram permet d'identifier les bactéries pathogènes **F** *(permet de classer les bac)*
- Les plasmides peuvent porter des gènes de résistance aux antibiotiques **V**
- La duplication des plasmides est simultanée à celle du nucléoïde **F** *(indépendante)*
- L'infection virale nécessite une adhésion du virion à la membrane de l'hôte **V**
- Le génome d'un virus code pour toutes les protéines qui le composent **V**
- La transcriptase réverse est présente dans le TMV **F** *(VIR)*
- Les mésosomes, les pili et les flagelles sont des structures issues de la membrane bactérienne. **V**
- Le virus grippal se développe dans les cellules hôtes par cycle lytique **V**
- L'herpès virus comme le virus de l'hépatite ^{→ pas tous} sont des virus oncogènes **F**
- L'infection par le HIV peut rester silencieuse car ce virus présente un cycle lysogène. **V**
- Le mécanisme de développement du virus s'exprime par la fusion ou l'endocytose par récepteurs **F** *12 infection*

6-2 La technique d'immunofluorescence et le microscope à fluorescence

C'est une technique d'immunomarquage utilisant des fluorochromes ou fluorophores.

Par définition, le fluorochrome (fluorophore) désigne toute substance chimique naturelle (chlorophylle, pigments cellulaires...) ou artificielle (Fluorescéine, Rhodamine....) capable d'émettre une lumière de fluorescence.

Chaque fluorochrome est excitable par une radiation lumineuse spécifique généralement de haute énergie et de faible longueur d'onde dite lumière d'excitation. Celle-ci est réémise sous forme d'une lumière d'énergie plus faible dite lumière de fluorescence.

Aussi, la détection de la fluorescence, dans une préparation biologique, nécessite l'utilisation d'un microscope adapté: le microscope à fluorescence.

Nous citerons quelques exemples de fluorochromes utilisés: la Fluoresceine, la Rhodamine et le DAPI (4',6'-diamidino-2-phénylindole).

Le microscope à fluorescence, dispose d'un système optique permettant, d'une part de filtrer la radiation lumineuse capable d'exciter le fluorochrome utilisé et d'autre part d'un système de visualisation de la lumière fluorescente émise.

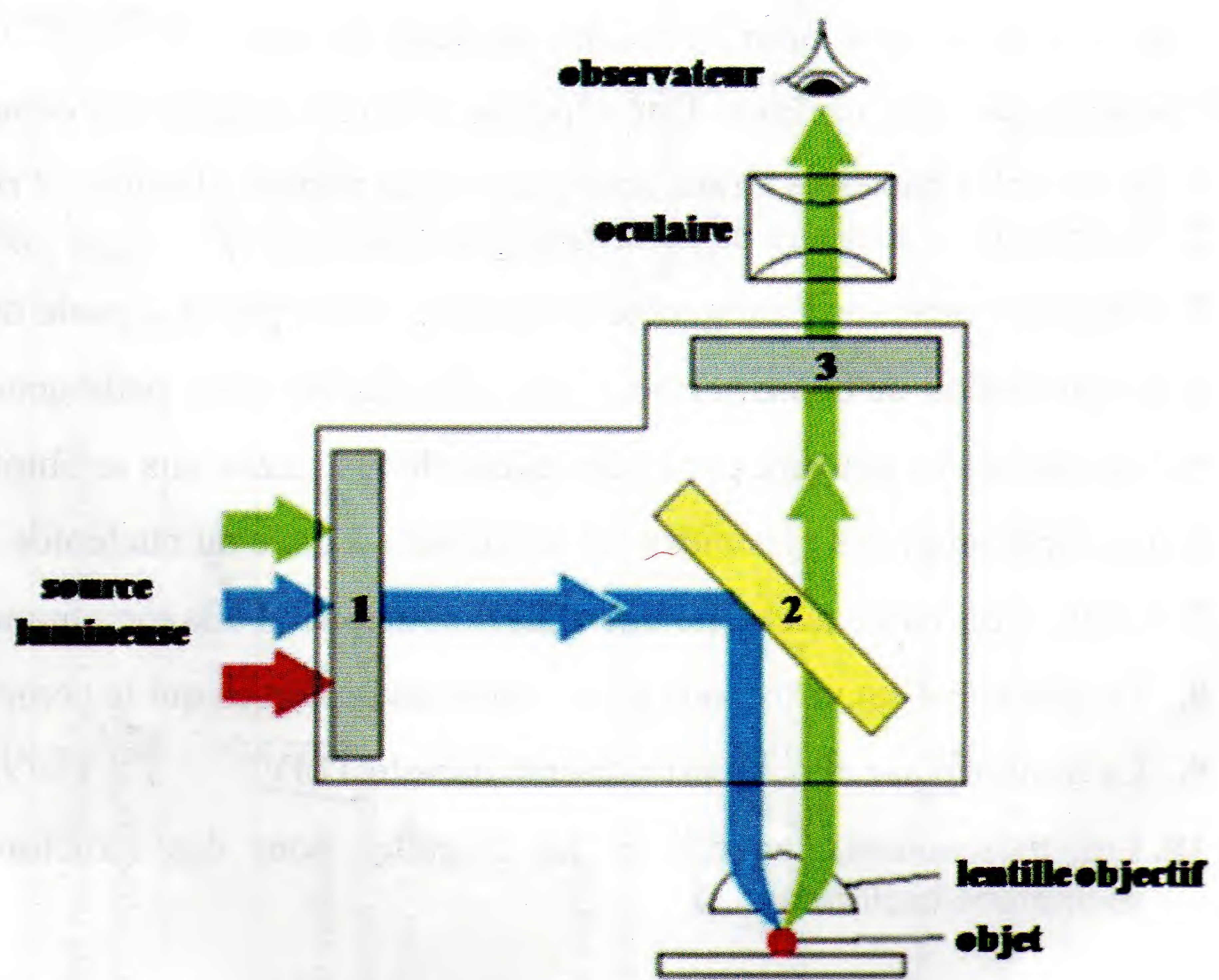
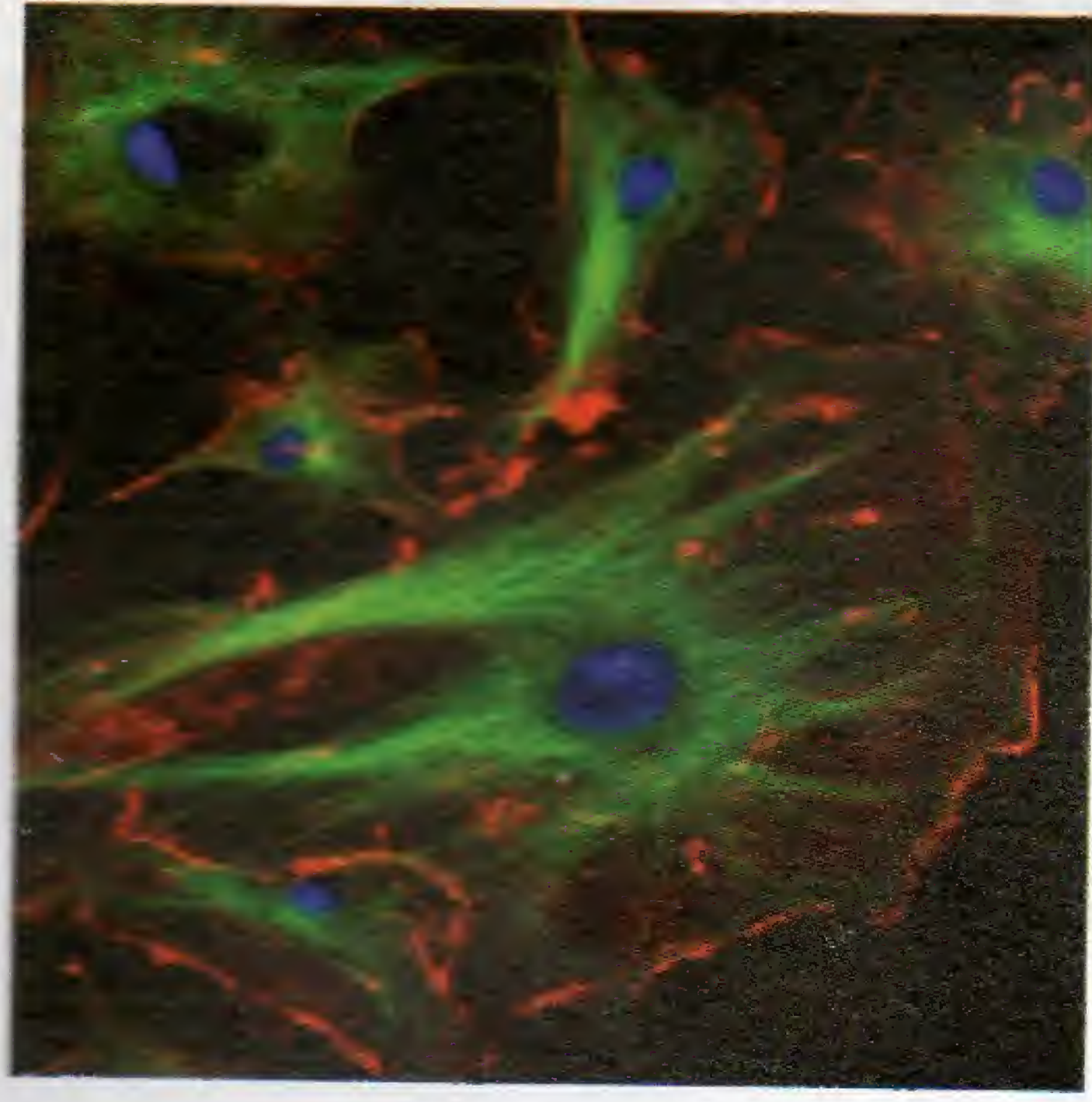


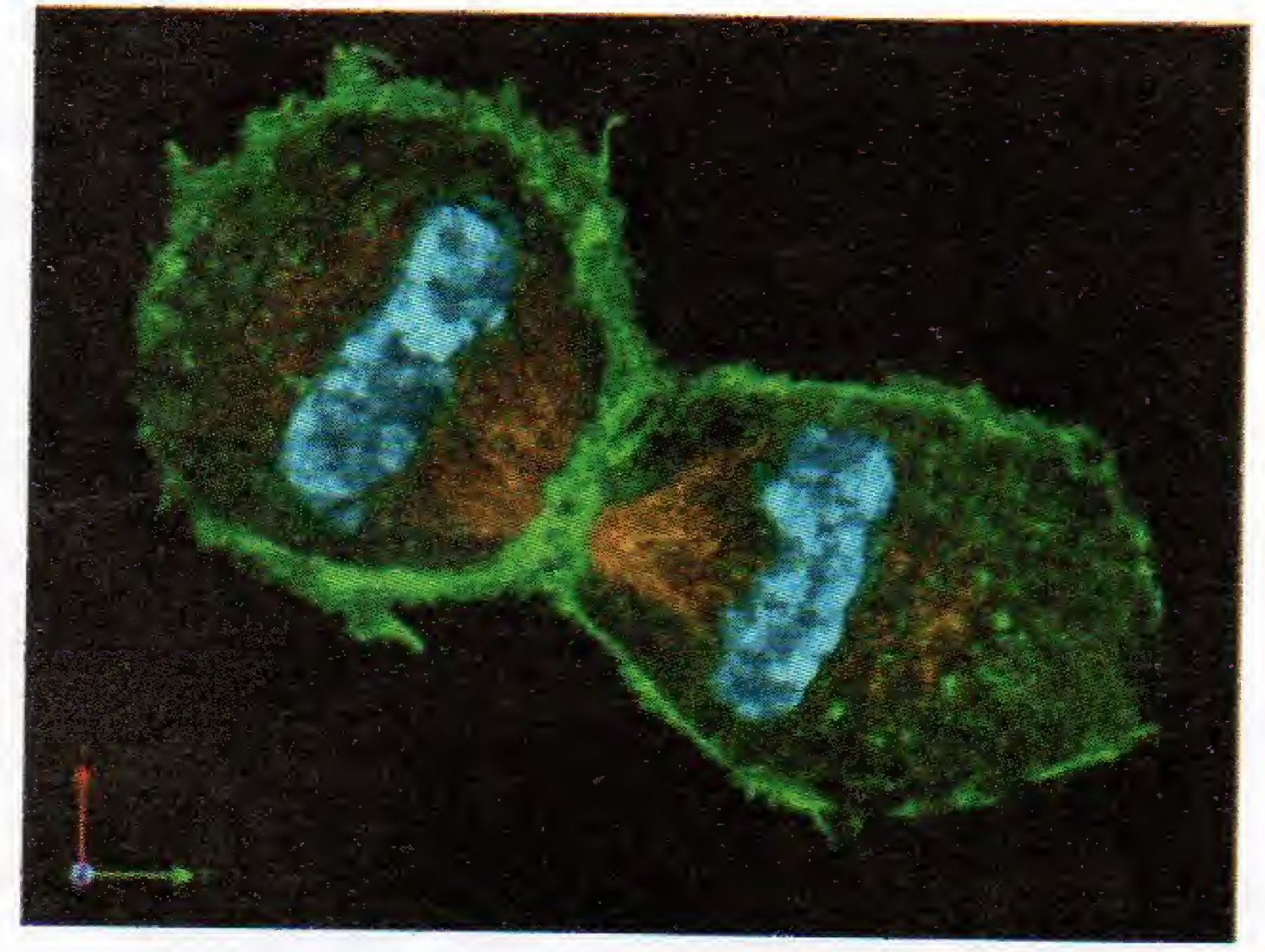
Schéma 5: Composants du microscope à fluorescence

1. filtre d'excitation, 2. miroir dichroïque, 3. filtre d'émission



Photomicrographie montrant la répartition des éléments du cytosquelette dans un fibroblaste en culture

Les microtubules en vert par la fluoresceïne, les microfilaments d'actine en rouge par la rhodamine, et l'ADN en bleu par le DAPI.



Photomicrographie montrant une cellule en fin de mitose

L'ADN nucléaire en bleu (DAPI), le fuseau de microtubules en rouge (rhodamine) et le réseau d'actine sous membranaire en vert (fluoresceïne)

Micrographies de cellules observées par immunofluorescence

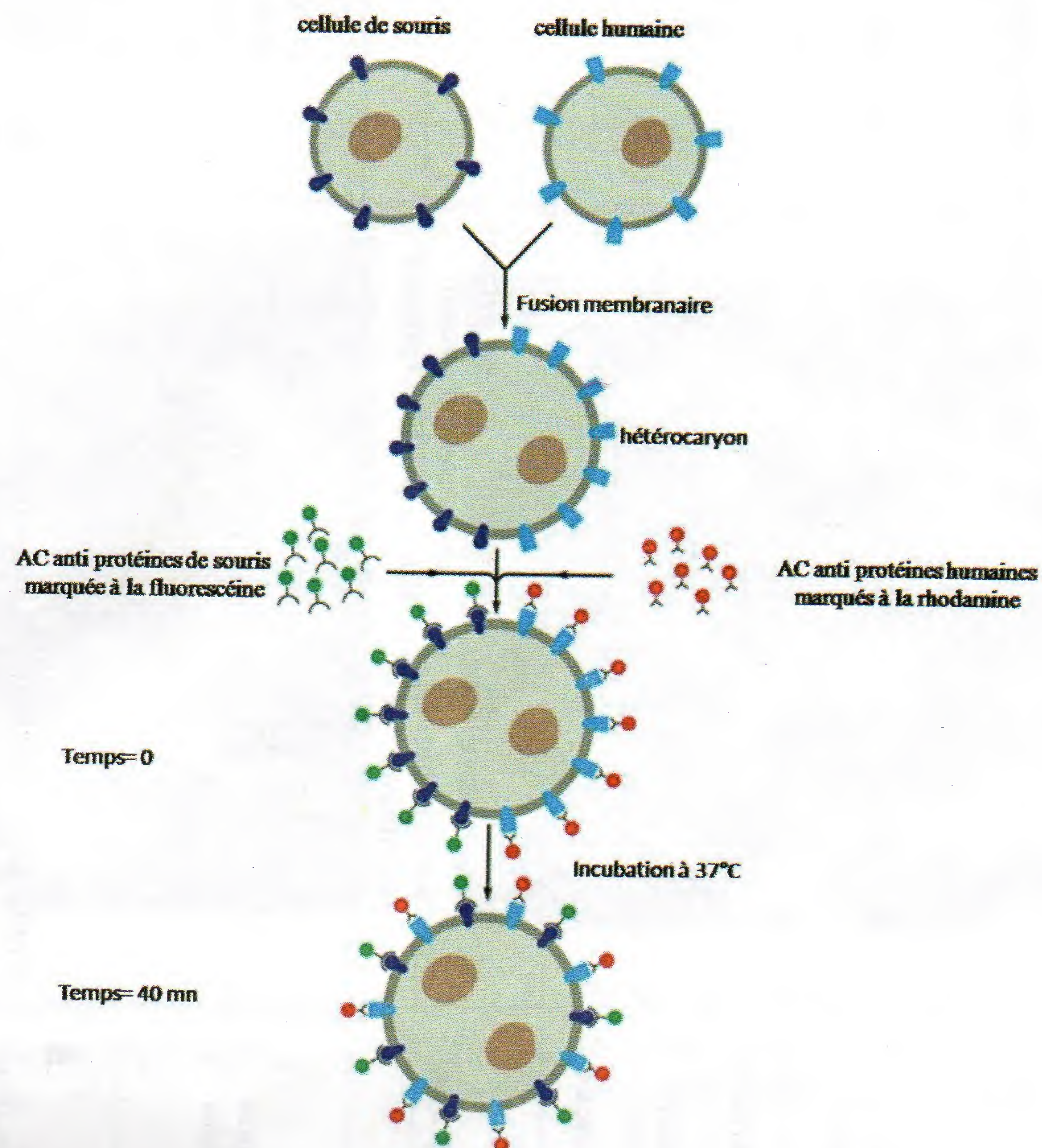


Schéma 7 : Visualisation de la fluidité des protéines par la microscopie à fluorescence. Expérience de Frye & Edidin (1971)

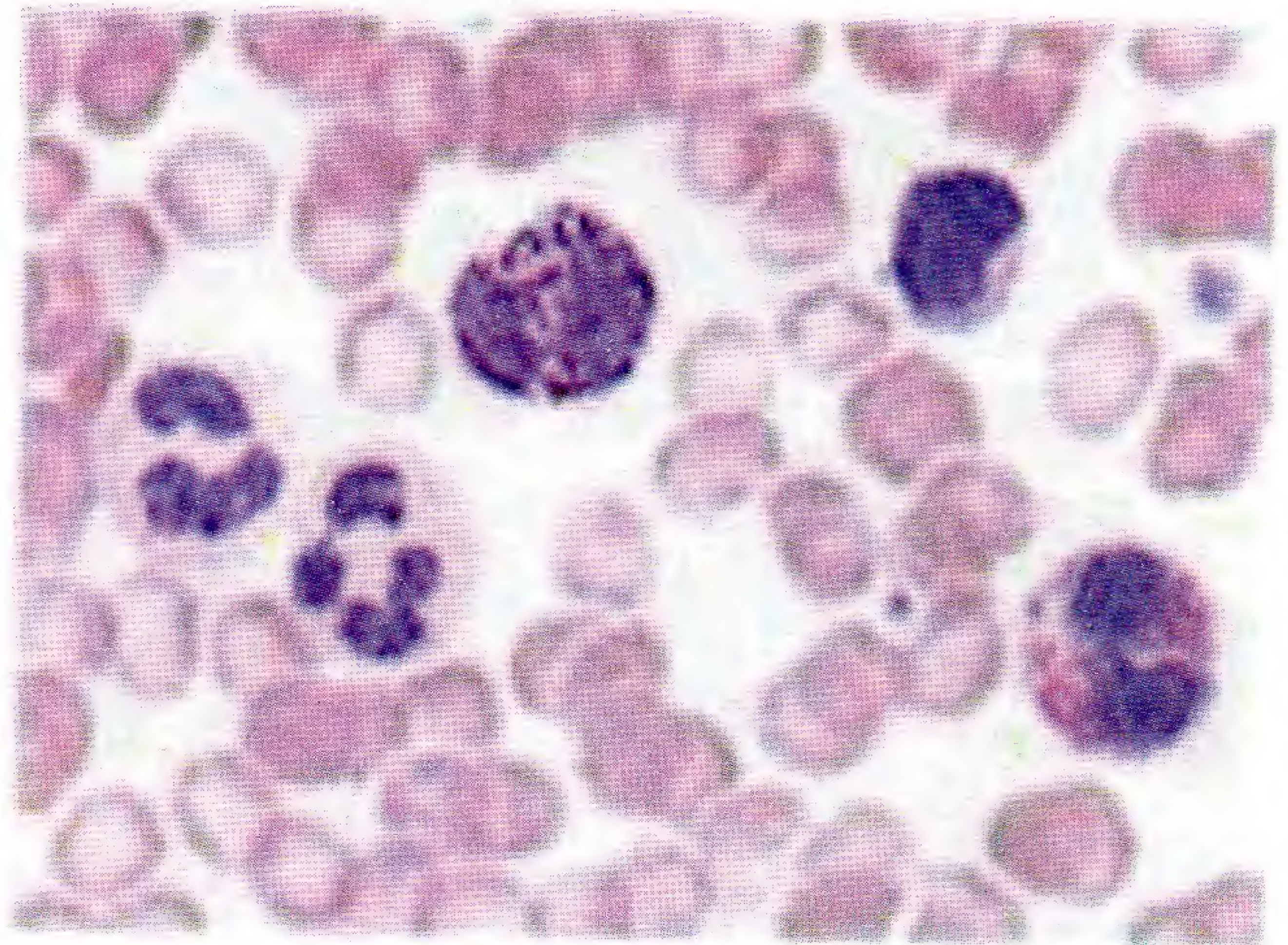
Tableau résumant les spécificités de 4 types de microscopes et les domaines de leurs utilisations.

Eléments de comparaison	Microscope photonique	Microscope photonique à fluorescence	Microscope électronique à transmission	Microscope électronique à balayage
Pouvoir séparateur		0,2 μm	0,2 nm	22 nm
Grossissement		x 1500	x 500. 000	x 300. 000
Epaisseur		Coupes (2-10 μm)	Coupes ultrafines (300Å)	Réplique à partir de coupes \pm épaisses Echantillon massif
Contraste	Utilisation de colorants chimiques spécifiques	Utilisation de fluorochromes (immunomarquage) sur coupes histologiques	Utilisation de métaux lourds <i>Contraste positif.</i>	
Techniques applicables	Techniques histologiques		i. Coupes cytologiques et contraste positif ii. Isolement et coloration négative iii. Coupes cytologiques et autoradiographie	i. Balayage/ombrage métallique ii. Cryodécapage et ombrage métallique (répliques) iii. Isolement et ombrage
Objectif recherché (applications)	Etude morphologique et structurale des tissus	Détection, localisation et quantification d'une ou plusieurs protéines	i. Etude ultrastructurale des cellules et virus Description des macromolécules Localisation des molécules organiques et suivi de leur cinétique	Etude tridimensionnelle des surfaces externes et internes

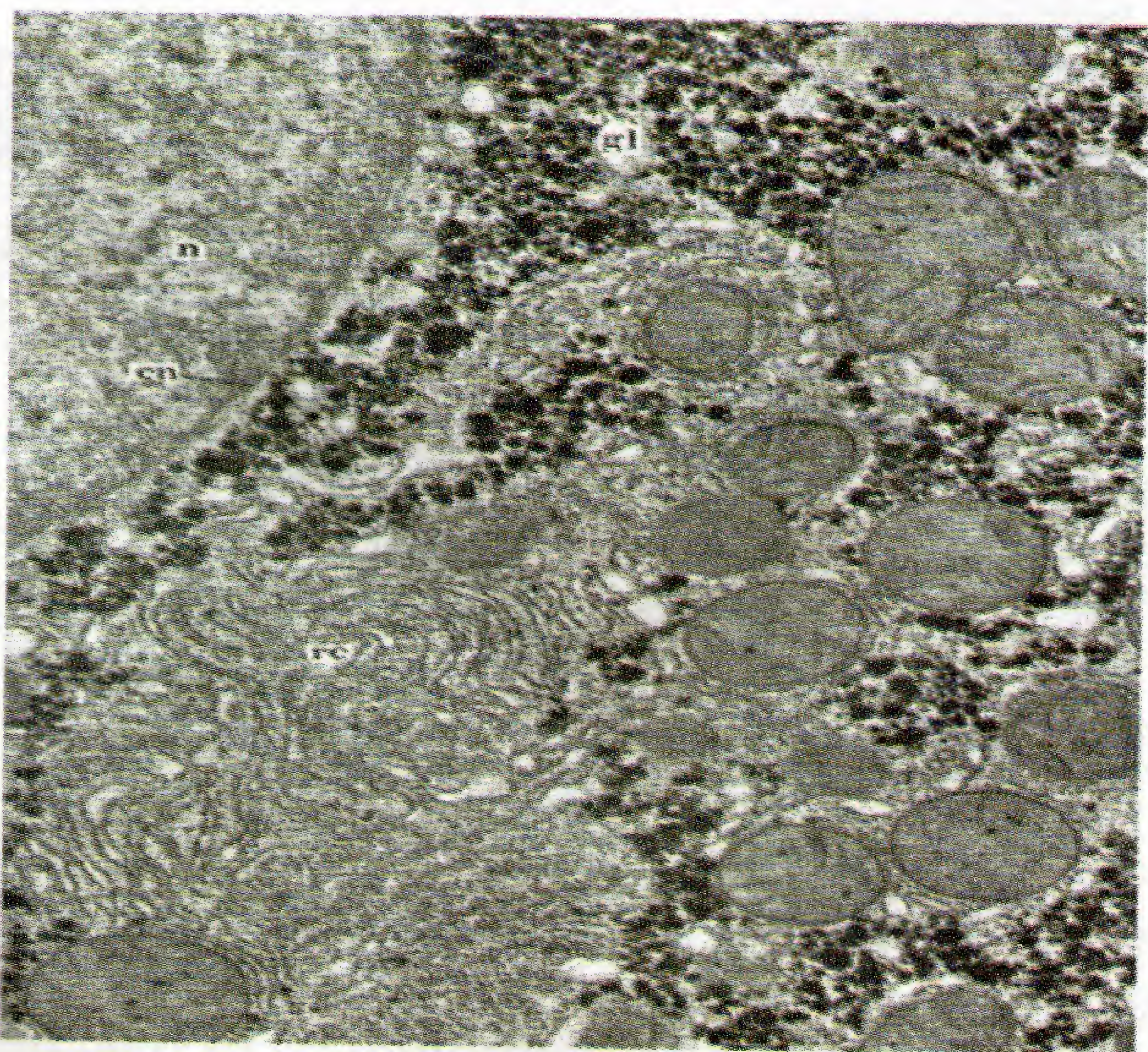
Micrographies de quelques échantillons biologiques observés en microscopie photonique (1,2) et microscopie électronique (de 3 à 8)



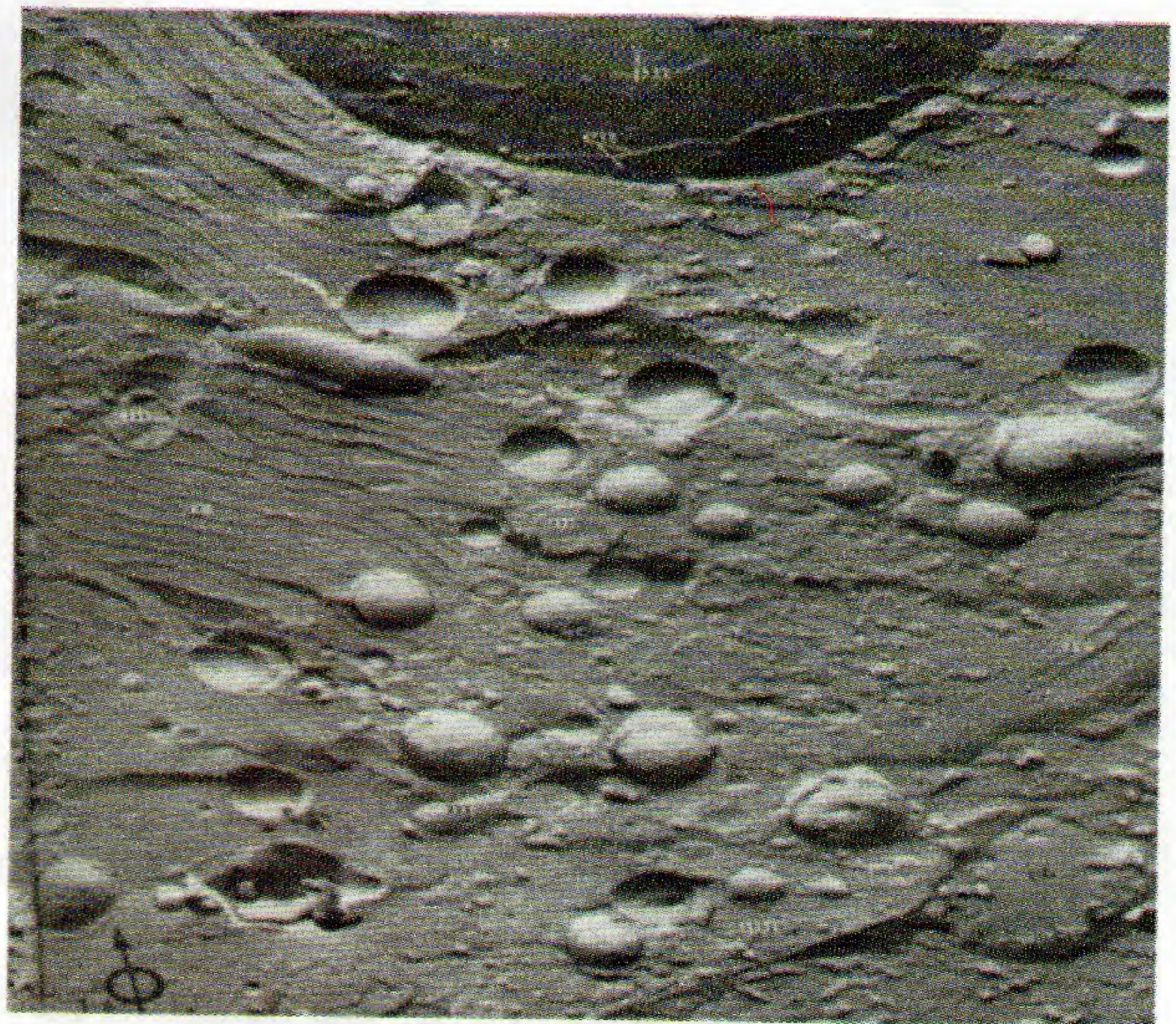
1. Portion de la muqueuse de l'intestin grêle observée au m.p.



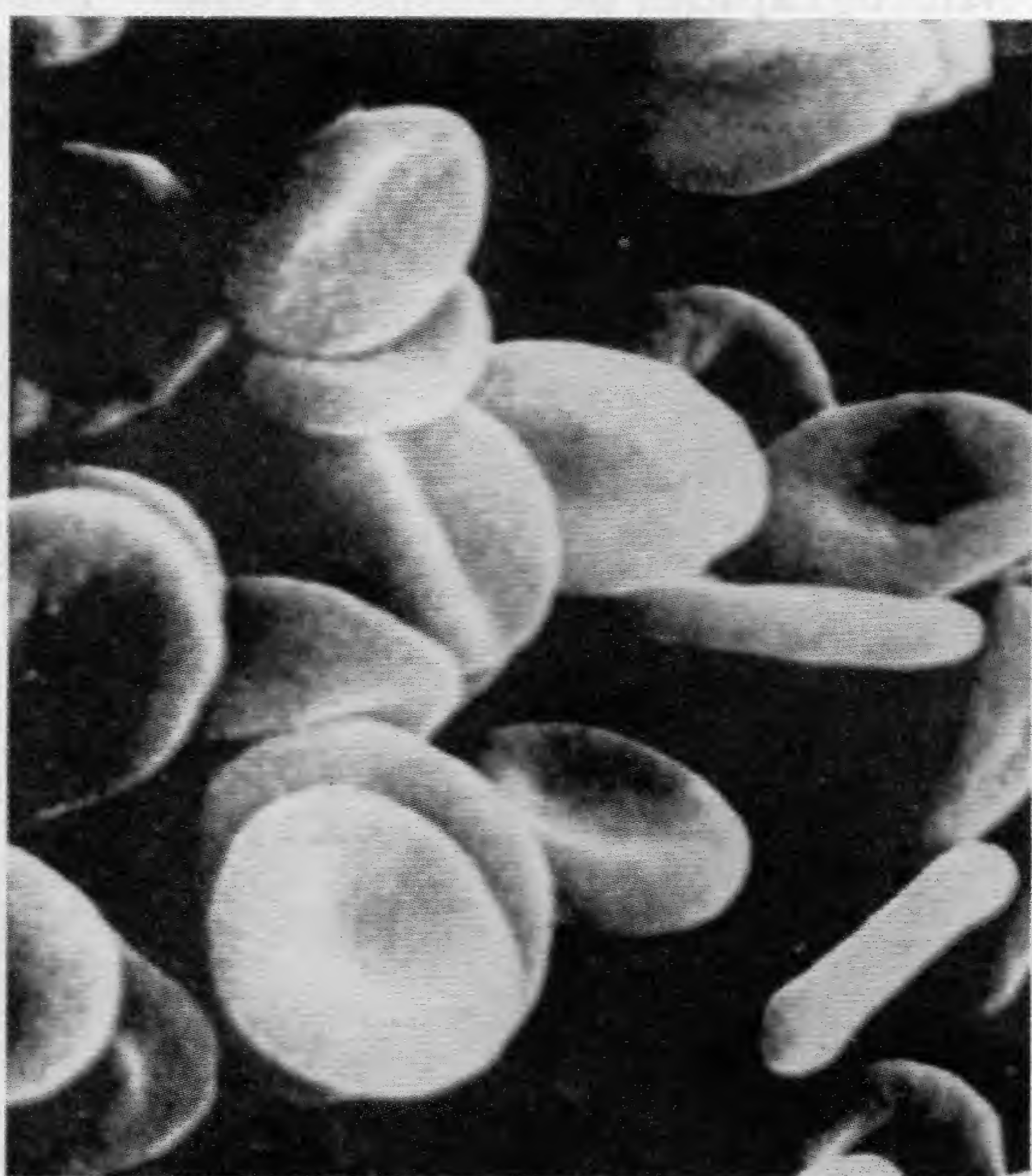
2. Micrographie d'un frottis sanguin humain observée au m.p.



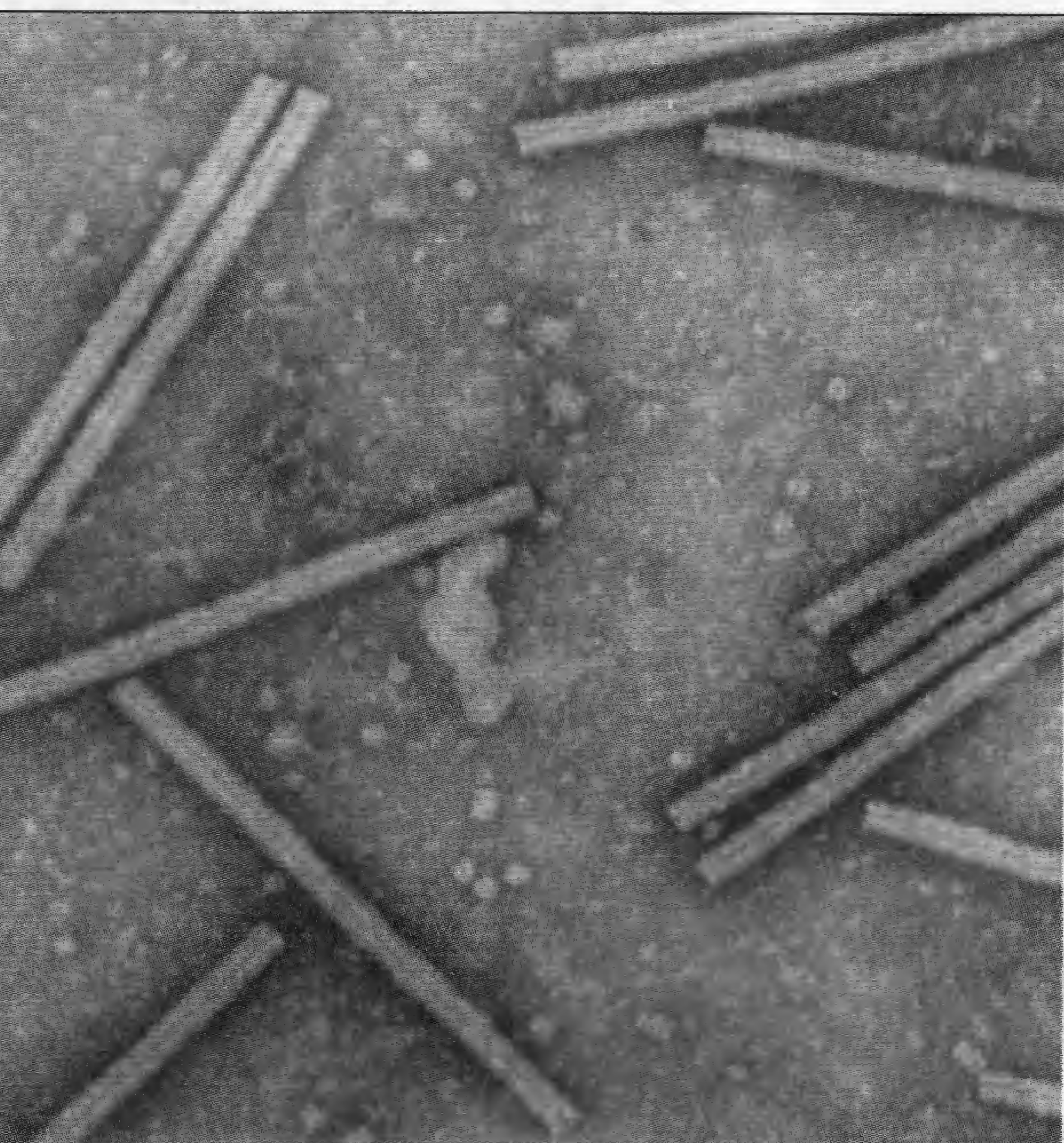
3. Ultrastructure d'une portion de cellule hépatique observée au MET après coloration positive.



4. Réplique de la surface interne d'une portion de cellule hépatique observée au MEB après ombrage.



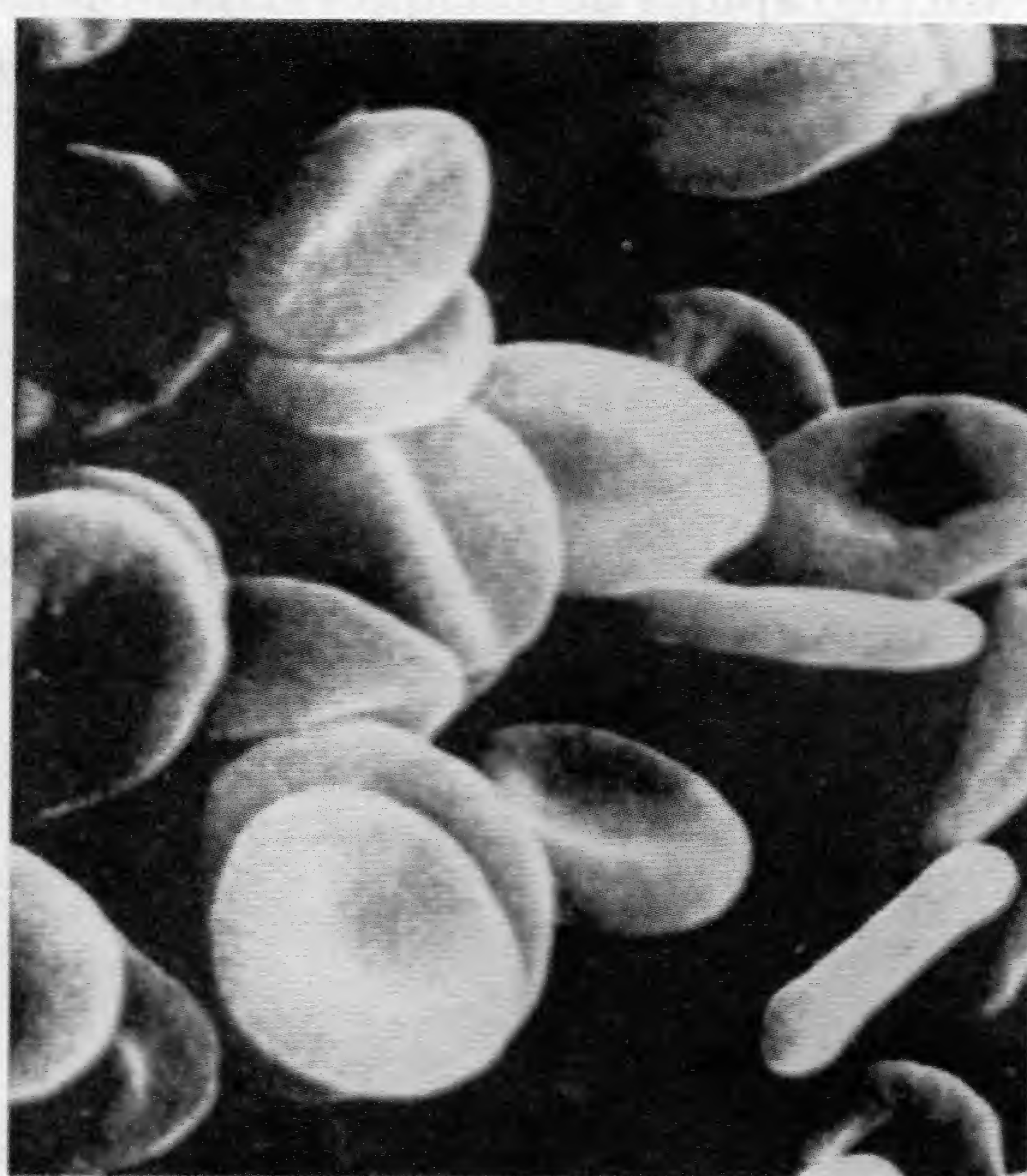
6. Balayage de la surface externe d'un culot d'hématies observées au MEB après ombrage.



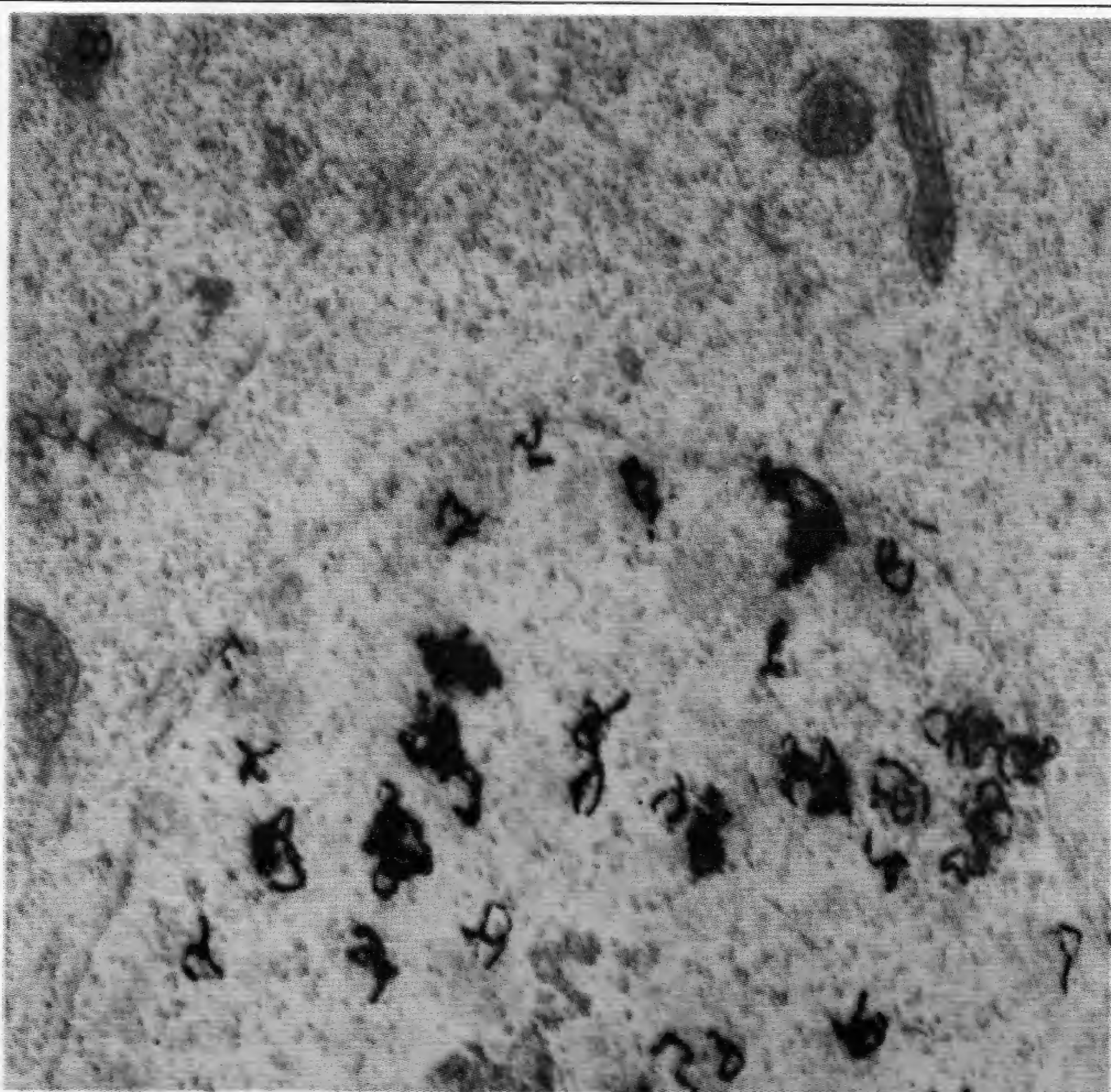
8. Virus de la mosaïque du tabac observé au MEB après coloration négative.



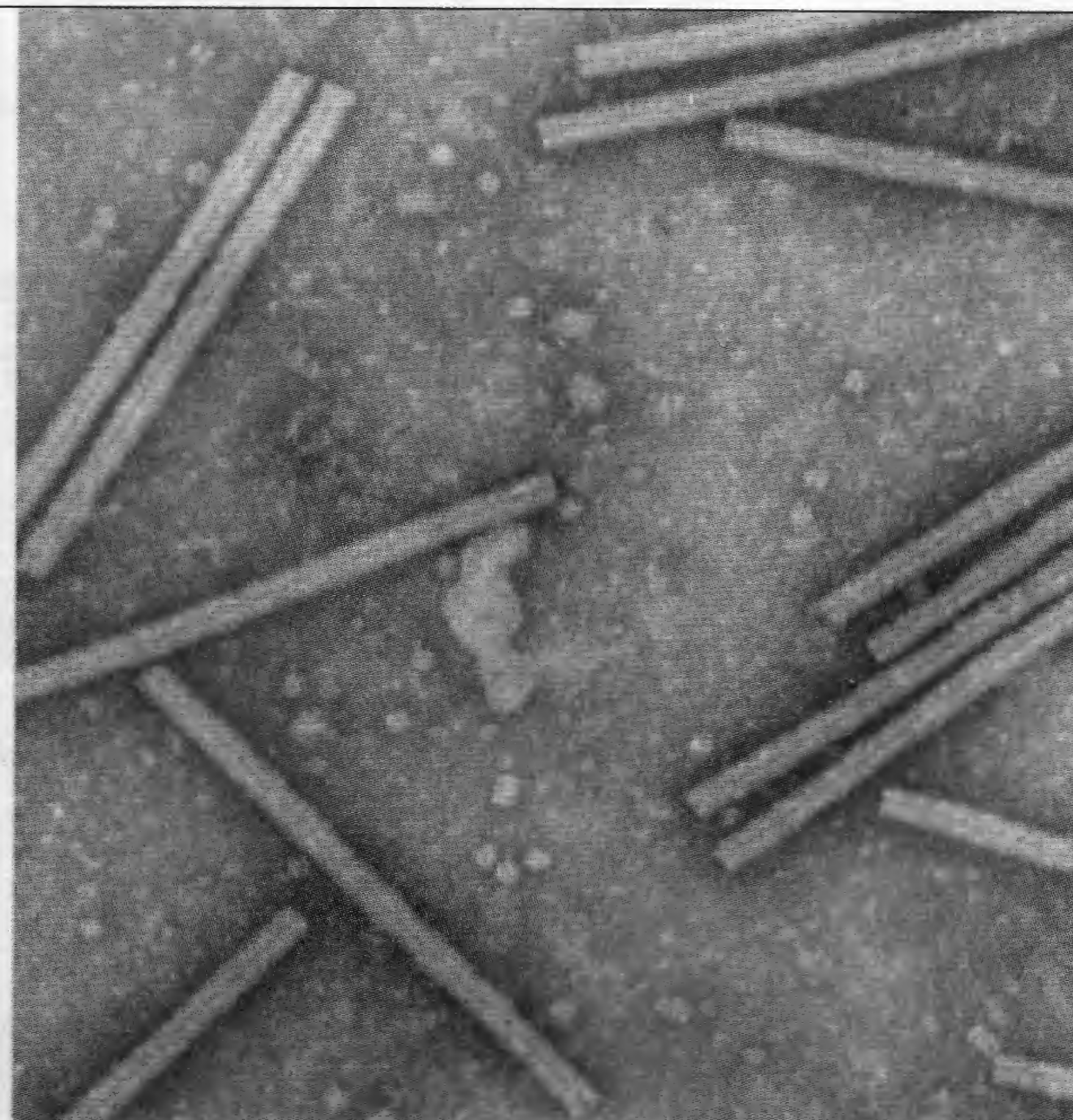
5. Réplique de la surface interne d'une levure observée au MEB après ombrage



6. Balayage de la surface externe d'un culot d'hématies observées au MEB après ombrage.



7. Localisation des grains de bromures d'argent après autoradiographie sur une cellule en interphase (S) ; observation au MET.



8. Virus de la mosaïque du ta bac. observé au MET après coloration négative.

Test d'autoévaluation

Encercler la ou les réponses correctes. Une réponse incomplète = 0 pt

La cryofracture permet :

1. l'observation des images tridimensionnelles de l'échantillon ✓
2. l'étude des surfaces cellulaires ✓
3. la préparation de l'échantillon à la microscopie électronique à balayage ✓
4. la révélation trisatifiée des cytomembranes ✗
5. l'isolement des membranes ✗

L'ultracentrifugation permet :

1. l'analyse physico chimique des composants cellulaires ✗
2. le fractionnement et la purification des organites ✓
3. l'identification des organites isolés ✗
4. la sédimentation des structures cellulaires ✓
5. la localisation d'enzymes membranaires ✗

La coloration négative est appliquée à :

1. l'étude des membranes biologiques ✗
2. l'observation vitale des cellules ✗
3. la cinétique moléculaire ✗
4. l'identification des microorganismes ✓
5. la description morphologique de structures cellulaires ✓

L'étude en microscopie à transmission :

1. permet une description morphologique du cytosquelette ✓
2. donne l'ultrastructure d'un échantillon ✓
3. se fait après coupe et contraste positif ✓
4. est réalisée en vue d'une quantification moléculaire ✗
5. utilise un contraste du pourtour de l'échantillon ✓

L'étude tridimensionnelle des surfaces cellulaires :

1. est réalisée après injection d'un précurseur radioactif ✗
2. est visualisée au microscope à balayage ✓
3. utilise un système révélant les fluorochromes ✗
4. donne une image par réflexion d'électrons ✓
5. nécessite l'obtention d'un moule de l'échantillon ✓

L'étude de l'arrangement des cellules dans un tissu :

1. est réalisée par la technique des coupes histologiques ✓
2. est possible en microscopie électronique et photonique ✓
3. se fait par l'utilisation de colorants chimiques ✓
4. peut nécessiter la conservation des cellules ✗
5. utilise un contraste du pourtour du tissu ✗

L'étude de la cinétique d'une protéine cellulaire :

1. est réalisée après injection d'un précurseur radioactif ✓
2. est visualisée au microscope électronique sur coupes cytologiques ✓
3. utilise un système révélant la radioactivité ✓
4. fait appel à une cryofracture de l'échantillon ✗
5. nécessite un marquage in vivo ✓

✓ vivant.

CHAPITRE III : LA MEMBRANE PLASMIQUE

La membrane plasmique est la structure qui entoure toutes les cellules. Grâce à la complexité de sa structure elle peut accomplir de multiples fonctions qui lui permettent d'interagir avec le milieu environnant ainsi qu'avec d'autres cellules proches ou lointaines. Ce chapitre commence par une description ultrastructurale de la membrane pour se poursuivre par ses aspects fonctionnels. Ainsi nous traiterons successivement, la fonction d'adhérence cellulaire, de perméabilité et de communication inter cellulaire.

A/ ASPECT ULTRASTRUCTURAL

1. TECHNIQUES DE MISE EN EVIDENCE

Deux techniques sont principalement utilisées en microscopie électronique: la technique des coupes minces et la technique des répliques

1.1 Observation des coupes minces

Après fixation au tétr oxyde d'osmium et contraste, l'observation des coupes minces au MET montre que la membrane plasmique est tristratifiée c'est-à-dire formée de deux feuillets denses et un feuillet clair. Les deux feuillets denses (osmiophiles), l'un interne et l'autre externe, sont épais chacun de 20 à 25Å. Le feuillet clair (osmiophobe) est compris entre les feuillets denses, il est épais de 30 à 40Å. Ainsi l'épaisseur moyenne de la membrane est de 75Å, mais elle varie entre 70 et 100Å selon les types cellulaires. Cette structure est identique chez toutes les cellules animales et végétales. De plus, l'aspect tristratifié est retrouvé dans tous les systèmes membranaires au sein d'une même cellule, c'est pourquoi elle est appelée membrane unitaire, membrane biologique ou cytomembrane (*Schéma 8*).



Schéma 8 : Membrane plasmique du globule rouge observée au MET après coupes minces et contraste positif

Au niveau de la membrane plasmique, le feuillet dense externe apparaît garni d'un mince film de matériel glycoprotéique dont les fibrilles sont disposées perpendiculairement au plan de la membrane, c'est le revêtement fibreux ou le cellcoat ou encore le glycocalyx.

Le feuillet dense interne porte du côté hyaloplasmique un feutrage microfilamentaire qui rend étroitement solidaire la membrane plasmique et le cytosquelette. Ce feutrage correspond à un réseau fibreux de filaments d'actine et de filaments intermédiaires constitués de protéines variables.

Le glycocalyx et le feutrage microfilamentaire sont responsables de l'asymétrie structurale de la membrane plasmique

1.2 Observation des répliques

L'observation de répliques après cryodécapage montre que lorsque le plan de fracture passe par la surface de la cellule, la membrane est clivée en son milieu en deux hémimembranes; l'hémimembrane exoplasmique du côté externe et l'hémimembrane endoplasmique du côté interne (*Schéma 9*). Elles présentent sur leurs faces opposées des reliefs et des dépressions complémentaires. Ces images correspondent à la présence de particules intramembranaires représentant un des composants chimiques de la membrane : les protéines (*Schéma 10*).

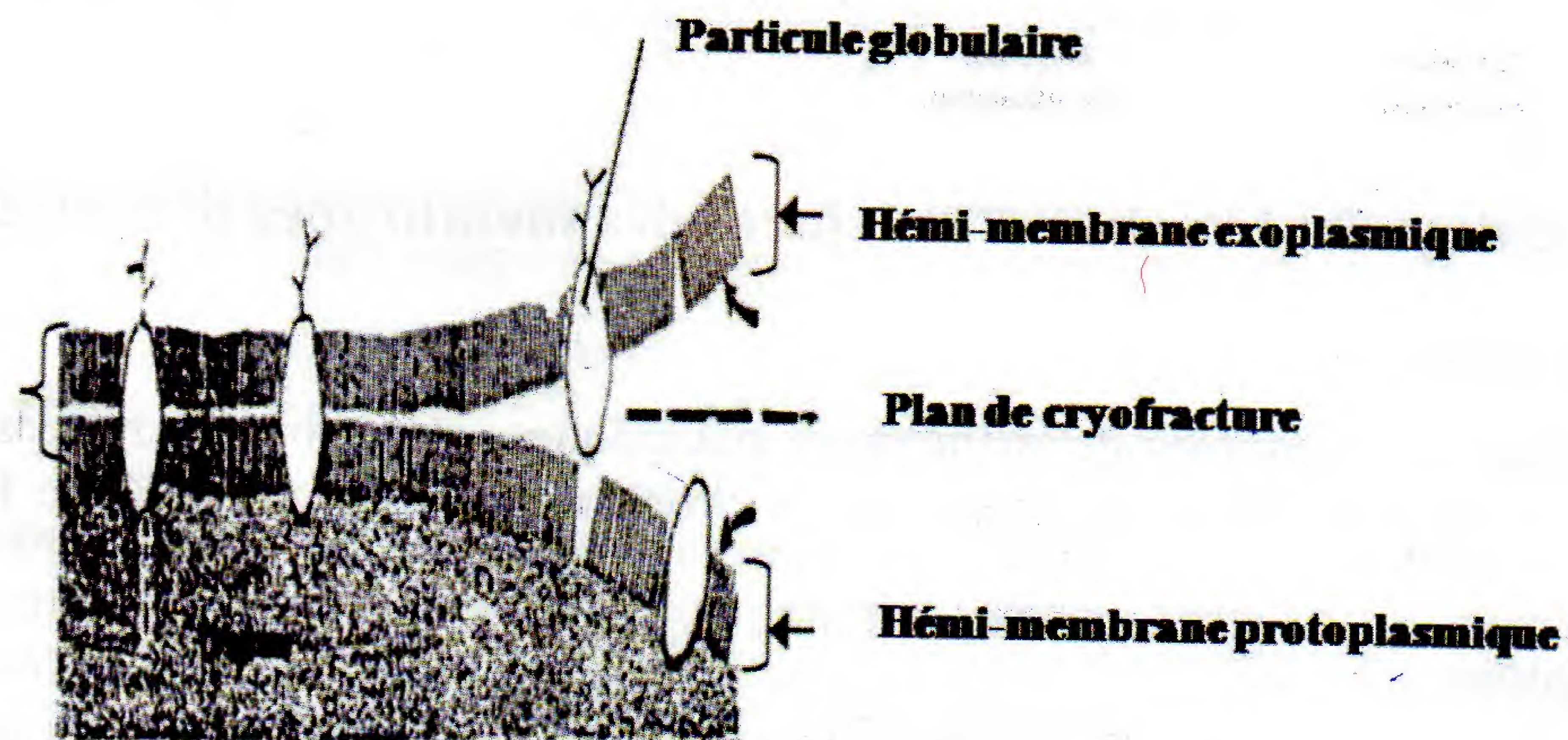


Schéma 9: Représentation de la cryofracture d'une membrane

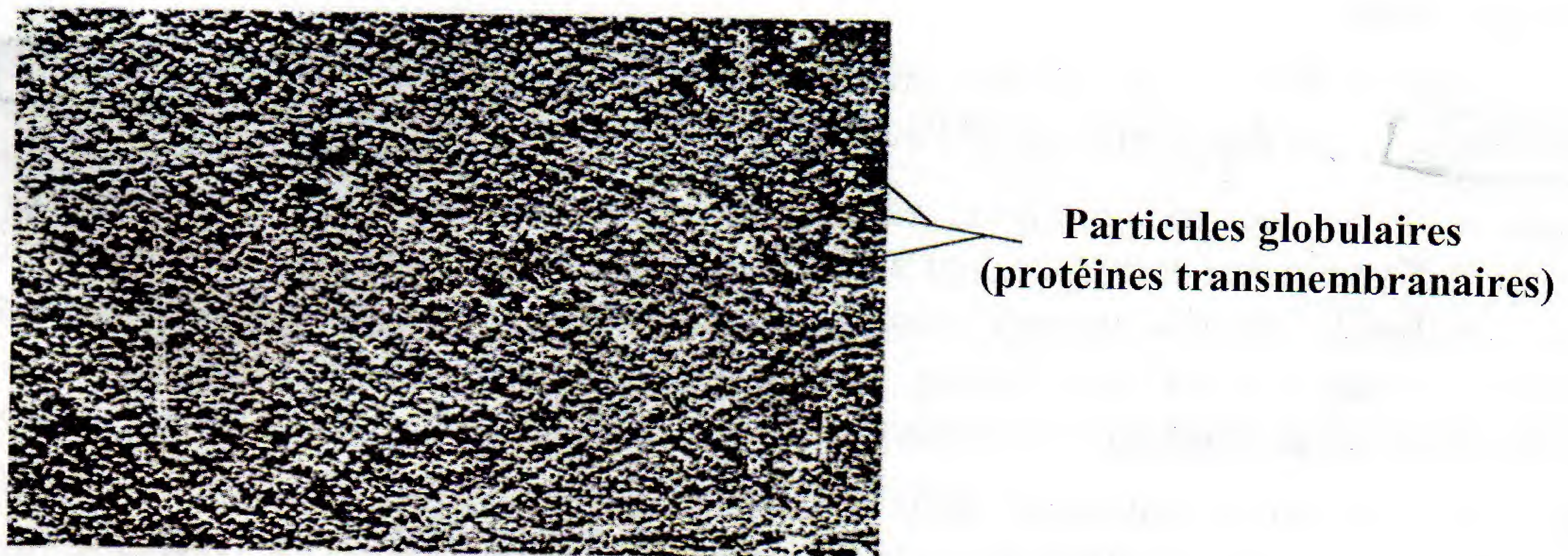


Schéma 10: Réplique d'une surface de membrane plasmique observée au MEB

2. COMPOSITION CHIMIQUE

2.1 Technique d'isolement

Le matériel le plus utilisé pour la préparation des fractions de membrane plasmique est le globule rouge des mammifères également appelé hématie ou encore érythrocyte. L'isolement se fait selon le protocole décrit en *Schéma 3*.

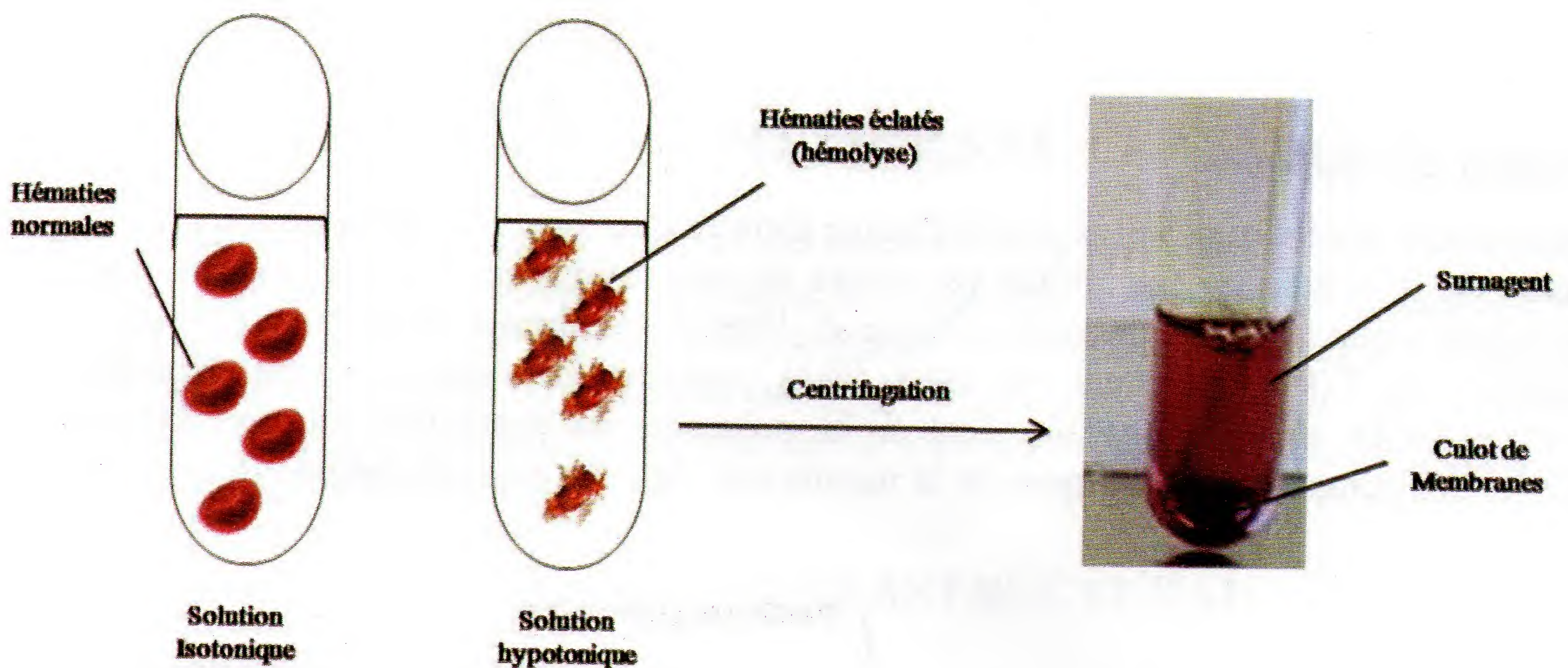


Schéma 3 : Procédé d'isolement des membranes d'hématies

2.2 Analyse chimique

L'analyse des fantômes de membranes plasmiques des globules rouges humains montre qu'il s'agit d'un assemblage de lipides et de protéines à raison de 40% de lipides et 60% de protéines.

2.2.1 Les lipides

Ce sont des molécules **amphiphiles** formées d'une tête ou extrémité polaire hydrophile (affinité à l'eau) et d'une queue apolaire hydrophobe (pas d'affinité à l'eau). L'**amphiphilie** veut dire que les molécules sont à la fois **hydrophiles** et **hydrophobes**. Ils comprennent trois variétés: les phospholipides, le cholestérol et les glycolipides.

Les phospholipides

- Ils constituent 55% des lipides membranaires et sont disposés en **bicouche** ou **deux monocouches**: une exoplasmique et l'autre endoplasmique
- Chaque molécule de phospholipide est formée d'une tête polaire de composition chimique variable et d'une queue correspondant à deux chaînes hydrocarbonées de longueur variable (12 à 24 atomes de C). Une des chaînes possède en général une ou plusieurs double liaisons (elle est insaturée, coudée) alors que l'autre n'en a pas (elle est saturée, rectiligne). A l'échelle membranaire ces doubles liaisons rendent les phospholipides plus fluides (état d'instabilité).
- Leur répartition est asymétrique dans la membrane: la phosphatidylcholine (PC) est du côté exoplasmique; la phosphatidyléthanolamine (PE), la phosphatidylsérine (PS) et le phosphatidyl inositol biphosphate (PIP₂) sont du côté protoplasmique. Cette asymétrie chimique ne veut pas dire que les phospholipides sont en proportions différentes sur les deux monocouches; il y a autant de phospholipides sur la monocouche exoplasmique que sur la monocouche endoplasmique.
- Certains phospholipides sont chargés négativement comme PS, d'autres sont neutres.

Remarque : Lors de l'apoptose les PS migrent vers la face exoplasmique (grâce à l'activation de la Scramblase (enzyme brouillon) pour inciter la phagocytose par les macrophages.

Le cholestérol

- Il constitue 25% des lipides membranaires

- Il est présent dans les deux feuillets membranaires et possède une morphologie plane
- C'est un lipide complexe formé d'un groupement hydroxyle polaire (OH:tête hydrophile), de noyaux stéroïdes et d'une chaîne carbonée (zone hydrophobe).

Les glycolipides

- Ils constituent 18% des lipides membranaires, cependant leur quantité varie d'une espèce à une autre mais aussi d'un tissu à un autre dans une même espèce.
- Ils sont exclusivement présents du côté **exoplasmique** de la bicouche lipidique c'est l'asymétrie structurale.
- Les glycolipides sont formés d'une queue (chaînes d'acides gras) et d'un groupement sphingosine (alcool amine) sur laquelle s'accroche soit un ose ou une chaîne d'oses.

2.2.2 Les protéines

Les protéines membranaires sont diversement associées à la bicouche lipidique, elles ont été classées en deux groupes : les protéines intégrées et les protéines périphériques.

- **Les protéines intégrées** comprennent les protéines transmembranaires et les protéines ancrées à l'un des feuillets membranaires.

Les protéines transmembranaires représentant la majorité des protéines membranaires sont des molécules amphiphiles : leurs zones hydrophobes interagissent avec les queues hydrophobes des molécules lipidiques alors que les régions hydrophiles sont exposées à l'eau de chaque côté de la membrane.

La plupart de ces protéines sont constituées d'une chaîne polypeptidique en hélice α qui traverse une fois la bicouche lipidique comme la glycophorine ou plusieurs fois comme la bande 3 du globule rouge.

Les protéines ancrées à la membrane le sont soit par une chaîne d'acides gras généralement du côté intracellulaire telles, les protéines kinases, les protéines G trimériques soit par un glycosylphosphatidyl inositol (GPI) du côté extracellulaire comme la CD45 des lymphocytes ou la NCAM 120 des Neurones.....

- **Les protéines périphériques** sont liées par des forces ioniques aux extrémités hydrophiles des phospholipides ou à des protéines transmembranaires. Elles peuvent être situées sur la face cytosolique comme la spectrine et l'ankyrine (représentées ci-dessous) ou sur la face extracellulaire telle que la fibronectine et la laminine (**Schéma 11**).

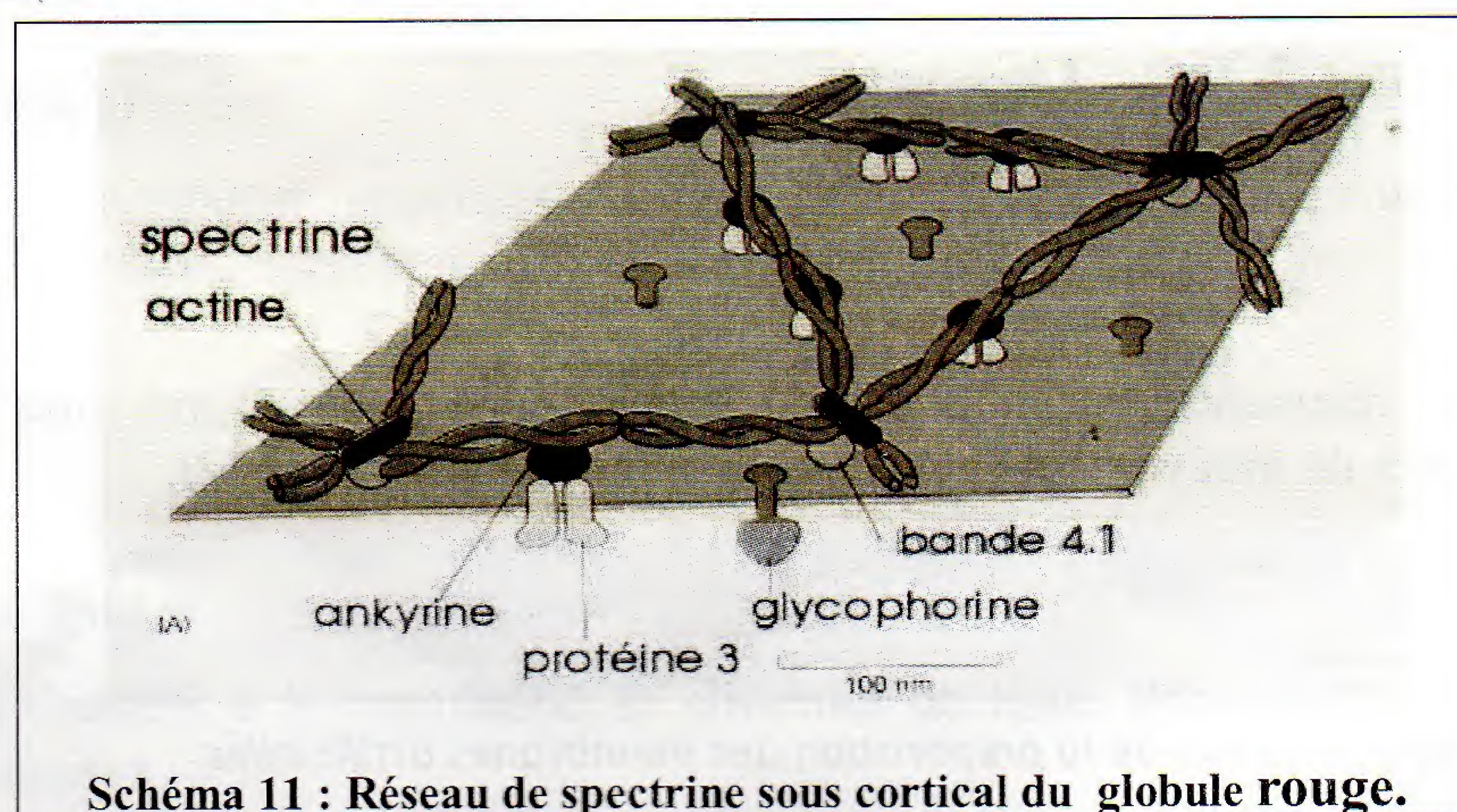


Schéma 11 : Réseau de spectrine sous cortical du globule rouge.

2.2.3 Les glucides

Ils sont représentés par des chaînes glucidiques linéaires ou ramifiées attachées aux lipides (glycolipides) et aux protéines (glycoprotéines et protéoglycanes) membranaires uniquement du côté extracellulaire. Ils forment le revêtement fibreux d'épaisseur variable, faible dans le globule rouge et pouvant atteindre 200 nm dans les cellules absorbantes (entérocytes = cellules épithéliales intestinales).

Les principaux glucides membranaires sont le glucose, le galactose, le mannose, le galactosamine, le glucosamine, l'acide sialique ou NANA (Acide N AcetylNeuraminique). Certains sont neutres d'autres chargés négativement tels que l'acide sialique. Exemples de glycolipides : les gangliosides et les cérébrosides.

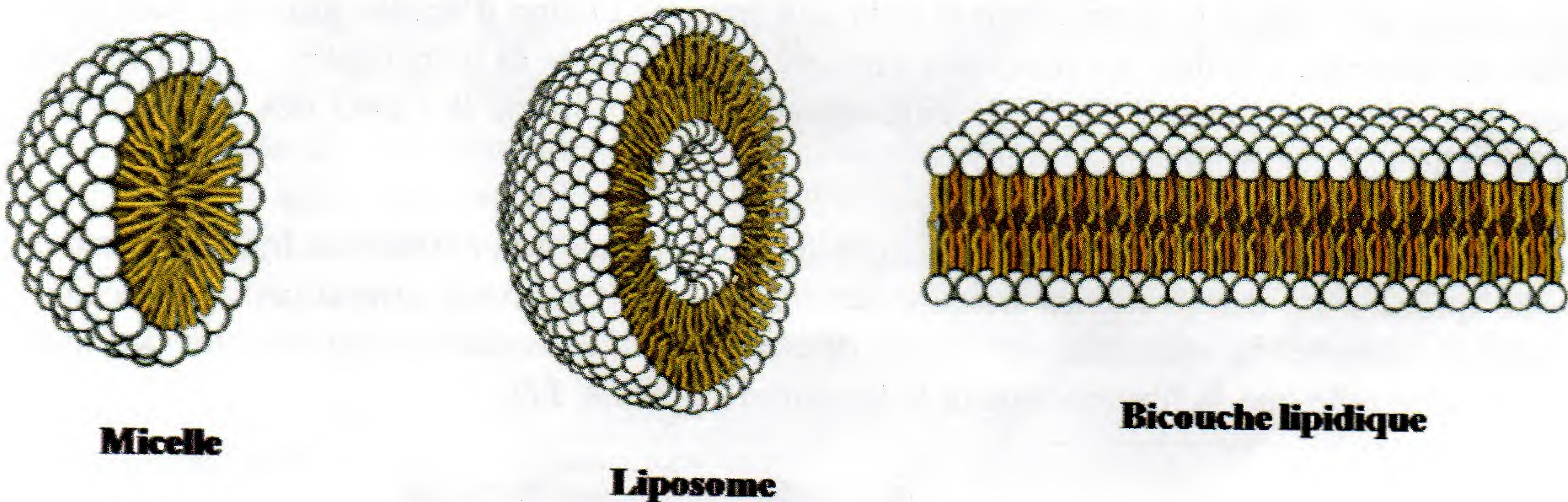
2.3 Propriétés physico-chimiques

2.3.1 Propriétés des lipides:

En milieu aqueux, les lipides membranaires sont capables d'autoassemblage et d'autofermeture (schéma ci dessous).

Propriété d'autoassemblage¹ : à cause de leur caractère amphiphile, les phospholipides tendent à former spontanément des monocouches ou des doubles couches en milieu aqueux.

Propriété d'autofermeture² : Les formations (mono ou double couches) ont tendance à se refermer sur elles-mêmes pour former des micelles (vésicules à 1 monocouche sans cavité) et des liposomes (vésicules à double couche avec cavité).



Propriété de fluidité:

La technique de résonance magnétique nucléaire (RMN) a montré que les lipides membranaires sont animés de mouvements permanents et rapides (*Schéma 12*).

^{1 et 2} Ces deux propriétés sont à la base de la préparation des membranes artificielles.

La RMN ou technique de résonnance magnétique est une technique physique qui consiste à irradier l'échantillon membranaire par des ondes radio (créant un champ magnétique); ces dernières sont absorbées par les molécules et traduites en énergie de mouvement.

Ces mouvements sont de quatre types:

1. la diffusion latérale : les molécules de phospholipides changent facilement de place avec leurs voisines à l'intérieur d'une monocouche; ce mouvement est très rapide.
2. la flexion : les chaînes hydrocarbonées sont flexibles en raison des doubles liaisons
3. la rotation : le phospholipide tourne autour de son axe
4. le bascule ou flip-flop : c'est un mouvement rare (environ une fois par mois) et consommateur d'énergie; il permet aux phospholipides et au cholestérol de passer d'une monocouche à une autre grâce aux flippases.

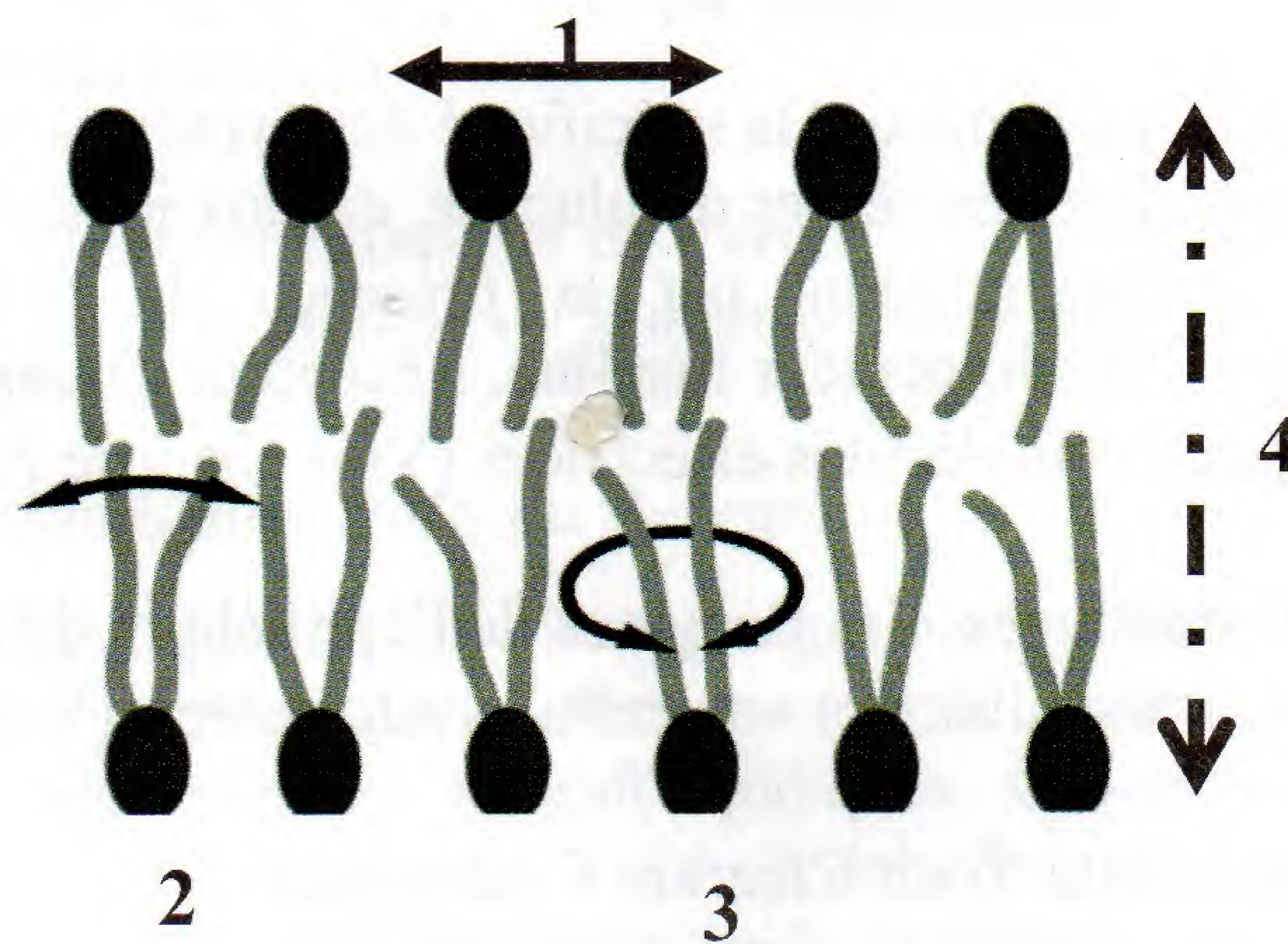


Schéma 12 : Les 4 types de mouvements qui animent les phospholipides membranaires

1. Diffusion latérale, 2. Flexion, 3. Rotation, 4. Bascule (flip flop)

Propriété de colmatage par le cholestérol:

Le cholestérol s'oriente dans la bicouche en plaçant son groupement hydroxyle près des têtes polaires des molécules phospholipidiques et leur cycle stéroïdien rigide avec les chaînes hydrocarbonées les plus proches afin de les immobiliser.

2.3.2 Propriétés des protéines

Les protéines membranaires sont douées de mouvements lents par diffusion latérale dans la bicouche lipidique. Cette fluidité a été mise en évidence par plusieurs techniques dont l'expérience de Frye & Edidin en 1970 (voir chapitre II).

2.3.3 Propriétés des glucides

Les chaînes glucidiques attachées aux protéines et aux lipides participent à la charge négative de la surface membranaire grâce à l'acide sialique ou NANA (acide N-acétylneuraminique).

3. FONCTIONS

3.1 Fonctions des lipides

Les lipides donnent à la membrane sa structure de base. Ils servent de solvant pour les protéines membranaires.

Les microdomaines stables (voir paragraphe 4) contrôlent la transmission et la transduction du signal.

Le Cholestérol grâce à ses propriétés de colmatage maintient la stabilité mécanique de la membrane (diminue sa déformation), diminue sa fluidité et sa perméabilité aux petites molécules.

Remarque : chez les bactéries la stabilité mécanique est plutôt améliorée par la paroi cellulaire puisque le cholestérol est absent.

3.2 Fonctions des protéines

Les fonctions sont diverses :

- Echanges sélectifs de molécules grâce à la spécificité des protéines vis-à-vis des différents déplacements moléculaires. Ex: perméases du glucose, canaux ioniques, pompe Na^+/K^+
- Réception de signaux extracellulaires par la présence de protéines dédiées à la reconnaissance de signaux. Ex : Récepteur Insuline, Récepteur glucagon...
- Transduction du signal par des molécules effectrices (Voir chapitre Récepteurs membranaires)
- Support des activités enzymatiques. Ex: Enzymes de l'épithélium du tube digestif
- Adhérence à la matrice extracellulaire et aux cellules adjacentes. (Voir Chapitre Adhésivité intercellulaire)
- Interaction avec le cytosquelette. (voir Chapitre Cytosquelette)

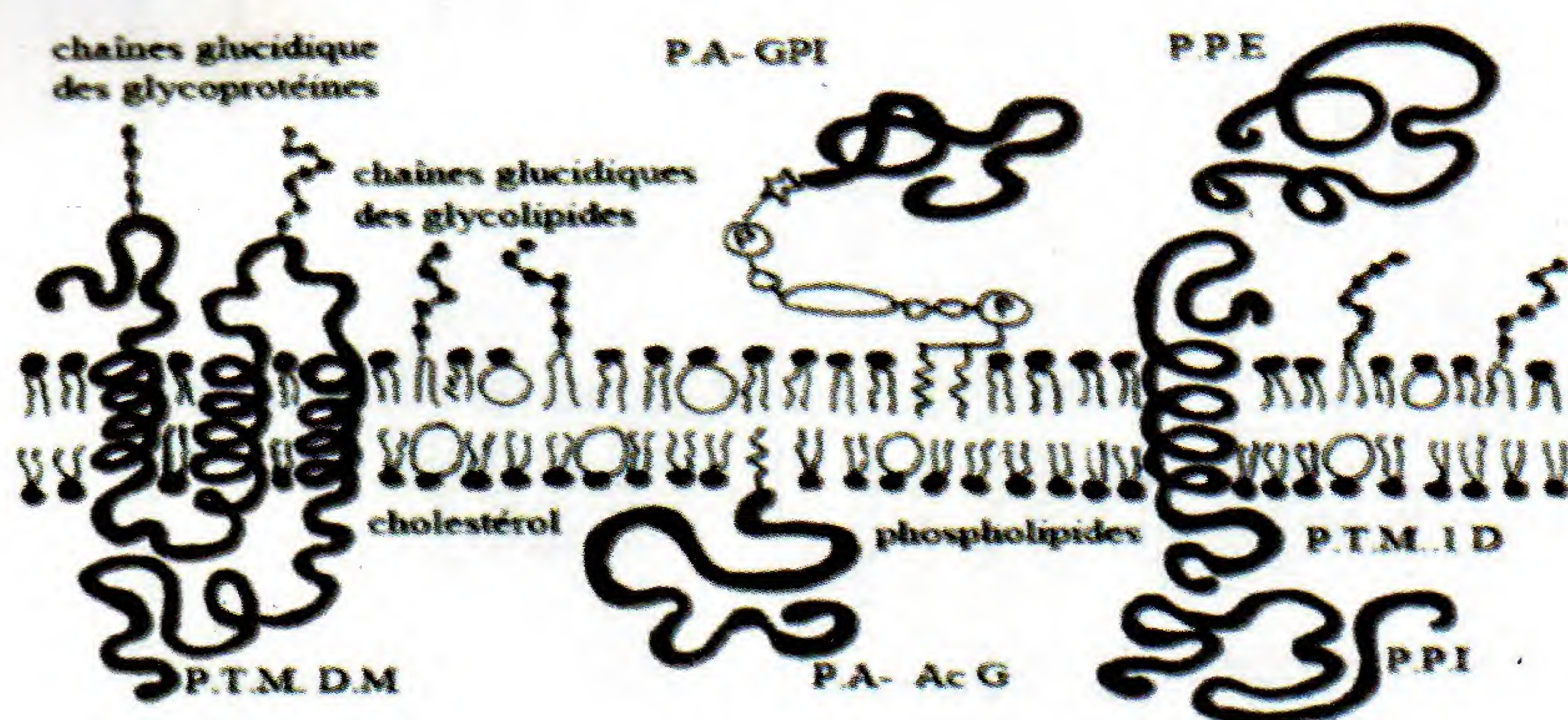
3.3 Fonctions des glucides (glycocalyx)

Cette zone péricellulaire riche en glucides assure plusieurs rôles :

- Antigènes de surface pour la reconnaissance du soi et du non soi. Ex : Système HLA/CMH, Système ABO.
- Adhésivité intercellulaire permanente (formation de tissus) ou transitoire (cas de la migration trans-endothéliale du leucocyte vers le foyer inflammatoire (Voir Chapitre Adhésivité intercellulaire).
- Protection des muqueuses contre l'acidité et l'action des enzymes digestives.
- L'acide sialique contribue par sa négativité à la fixation de co- facteurs enzymatiques comme le Ca^{++} et le Mg^{++} permettant ainsi l'activation des enzymes membranaires nécessaires pour la simplification des molécules nutritives complexes et faciliter ainsi leur internalisation notamment au niveau des pôles apicaux des entérocytes (voir Chapitre Perméabilité).

4. ARCHITECTURE MOLECULAIRE

En étudiant les membranes artificielles de composition bien définie et plus simple que celle de la membrane plasmique, **Singer & Nicholson** ont proposé en 1972 un modèle d'architecture moléculaire définissant la membrane plasmique comme une mosaïque fluide et asymétrique (*Schéma 13*).



P.P.E : protéine périphérique externe. P.P.I : protéine périphérique interne. A. GPI : Protéine ancrée par un GPI.
 P.A.AcG : Protéine ancrée par un acide gras. PTM. DM : protéine transmembranaire à domaines multiples.
 PTM ID : Protéine transmembranaire à 1 domaine.

Schéma 13 : Représentation schématique de l'architecture moléculaire de la membrane plasmique d'après le modèle de Singer & Nicholson (1971) actualisé.

Notion de microdomaines lipidiques, Rafts ou Radeaux :

Certaines molécules lipidiques comme les sphingolipides à longues chaînes hydrocarbonées saturées et le cholestérol se concentrent en petites zones spécialisées de 70 à 350 nm de diamètre nommées microdomaines membranaires ou raft lipidiques. Ces zones comportent en plus, des protéines réceptrices comme les récepteurs à l'Acétylcholine, à l'Insuline et aux facteurs de croissance ce qui fait de ces régions des sites privilégiés de signalisation cellulaire (*Schéma 14*).

La face cytosolique de ces rafts est revêtue d'un réseau de cavéoline, protéines périphériques internes en forme d'épingle à cheveux liées aux molécules de cholestérol favorisant l'assemblage et la stabilisation des microdomaines.

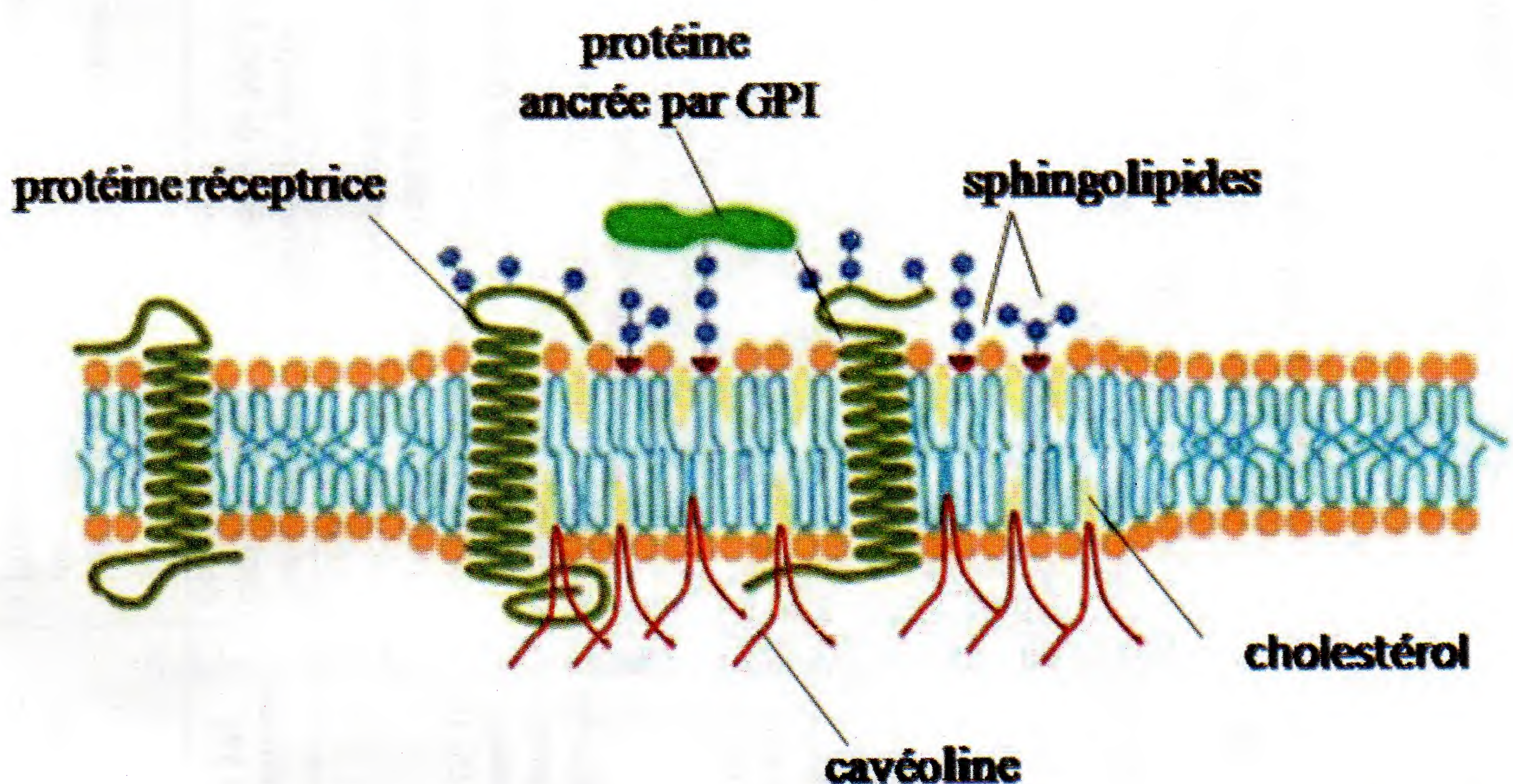


Schéma 14 : Représentation schématique de l'architecture moléculaire d'un microdomaine lipidique membranaire (radeau lipidique)

Tableau III : Tableau résumant les principaux dispositifs jonctionnels

Nom de la jonction	Aspect morphologique Organisation moléculaire	Composants moléculaires	Localisation	Rôles
Zonula occludens ou Jonction serrée ou Tight jonction (Schémas 15, 16, 17)	<ul style="list-style-type: none">- Sur coupe mince (MET) la jonction compte 5 feuilletts et un espace intercellulaire nul- Sur réplique (MEB) la jonction montre des rangées anastomosées de protéines globulaires.	Occludines (lignes anastomosées)	Au pôle apical des cellules épithéliales à microvillosités Ex : Entérocyte, cellules rénales, faces latérales des hépatocytes.	<ul style="list-style-type: none">- Barrière physiologique séparant le domaine apical du domaine baso- latéral des entérocytes- S'oppose au passage des molécules de la lumière vers l'espace intercellulaire pour optimiser les fonctions de transport au pôle apical
Zonula adhérens ou Desmosome de ceinture ou ceinture d'adhérence (Schémas 15, 16)	<ul style="list-style-type: none">- Sur coupe mince la jonction compte 7 feuilletts et un espace intercellulaire de 150 à 200Å.- Les faces cytoplasmiques des membranes portent des filaments d'actine entrecroisés constituant un réseau terminal	Cadhérines = protéines transmembranaires et Caténines = protéines d'ancrage	Fait directement suite à la jonction serrée dans les épithéliums polarisés Ex : Entérocytes, cellules rénales et acinus pancréatiques.	<ul style="list-style-type: none">- Maintien de la partie apicale de la cellule- Cohésion des cellules épithéliales- Synchronisation des mouvements lors de la contraction intestinale ou lors de l'exocytose
Macula adhérens, Desmosome ponctuel ou Desmosome (Schémas 15, 16)	<ul style="list-style-type: none">- Sur coupe mince la jonction compte 7 feuilletts et un espace intercellulaire de 300 Å rempli de matériel granulaire présentant une ligne médiane.- Les faces membranaires internes portent des plaques cytoplasmiques- Des tonofilaments traversent la cellule pour relier les desmosomes ponctuels et les hémidesmosomes	Cadhérines Plakoglobines + Desmoplakines = Protéines des plaques ou protéines d'ancrage	Sur les faces latérales des cellules. Ex : Cellules épidermiques, Entérocytes...	<ul style="list-style-type: none">- Cohésion intercellulaire- Points d'ancrage des tonofilaments (filaments intermédiaires de cytokeratine du cytosquelette)- Résistance mécanique des tissus
Hémi desmosome (Schéma 19)	Sur coupe mince on observe une plaque cytoplasmique, un espace basal de 300 Å et des filaments intermédiaires	Intégrines transmembranaires	Au pôle basal des cellules épithéliales.	Adhérence des cellules épithéliales à la lame basal
Jonction Gap ou Jonction communicante (Schéma 18)	<ul style="list-style-type: none">- Ultrastructure en 7 feuilletts et un espace intercellulaire de 20 à 40 Å- Présence de connexons de 6nm de diamètre.- Les connexons mis face à face délimitent 1 canal central de 2 nm de diamètre permettant la communication directe intercellulaire	Hexamères de connexines	<ul style="list-style-type: none">- Epithéliums de revêtement (Entérocytes)- Tissus de soutien (os, cartilage)- Tissus musculaires non squelettiques- Tissus nerveux	<ul style="list-style-type: none">- Communications intercellulaires par des petites molécules telles que ATP, AMPc, ions, acides aminés, oses, nucléotides- Rôle de synapses électriques- Amplification de la réponse hormonale par couplage métabolique des cellules

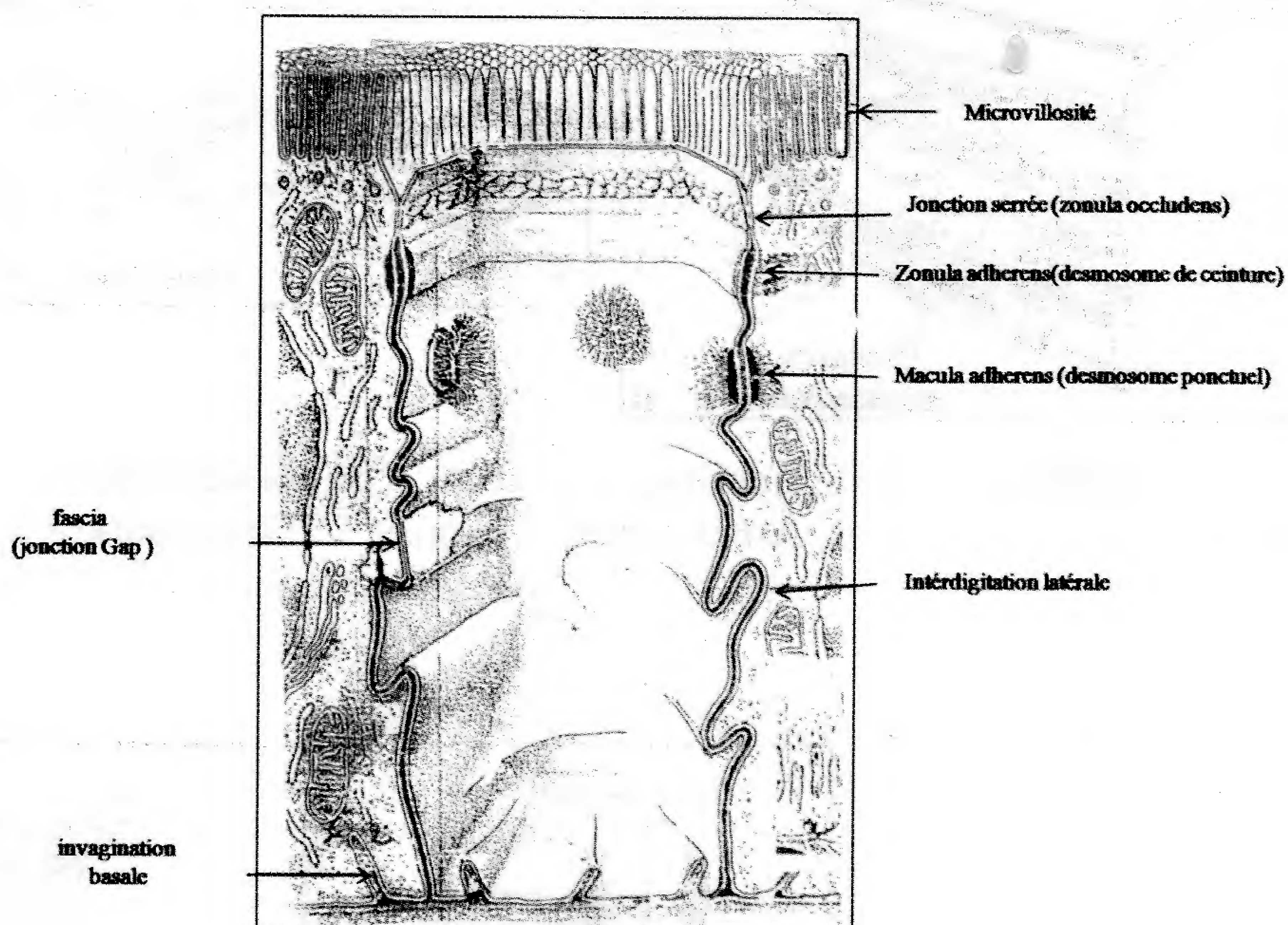


Schéma 15 : Représentation en coupe et en perspective des dispositifs jonctionnels observés en MET & en MEB

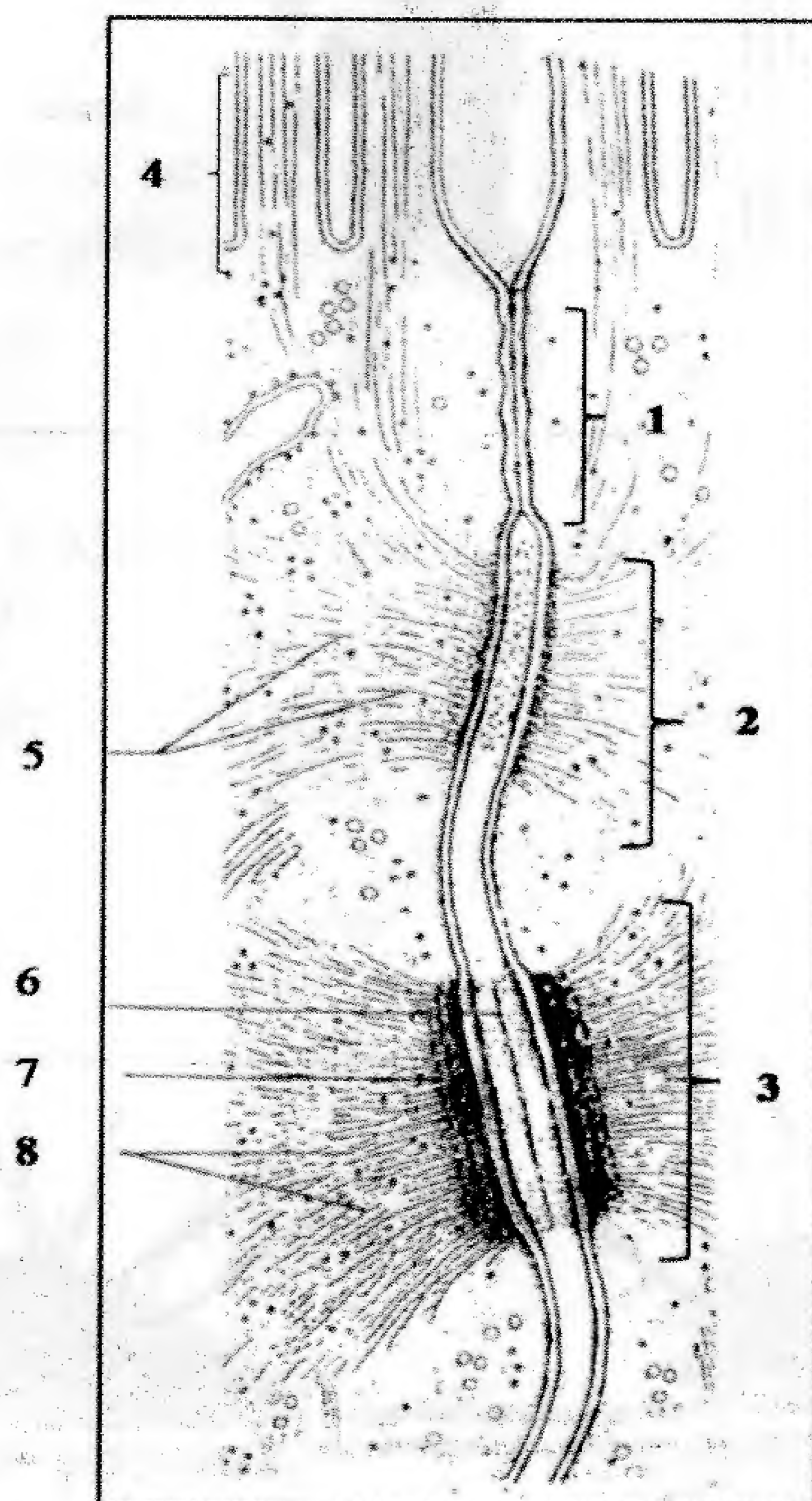


Schéma 16 : Représentation schématique de l'ultrastructure du complexe jonctionnel

1. Zonula occludens, 2. Zonula adherens, 3. Macula adherens, 4. Microvillosité,
5. Filaments fins d'actine, 6. Ligne médiane, 7. Plaque cytoplasmique,
8. Filaments de cytokératine (tonofilaments)

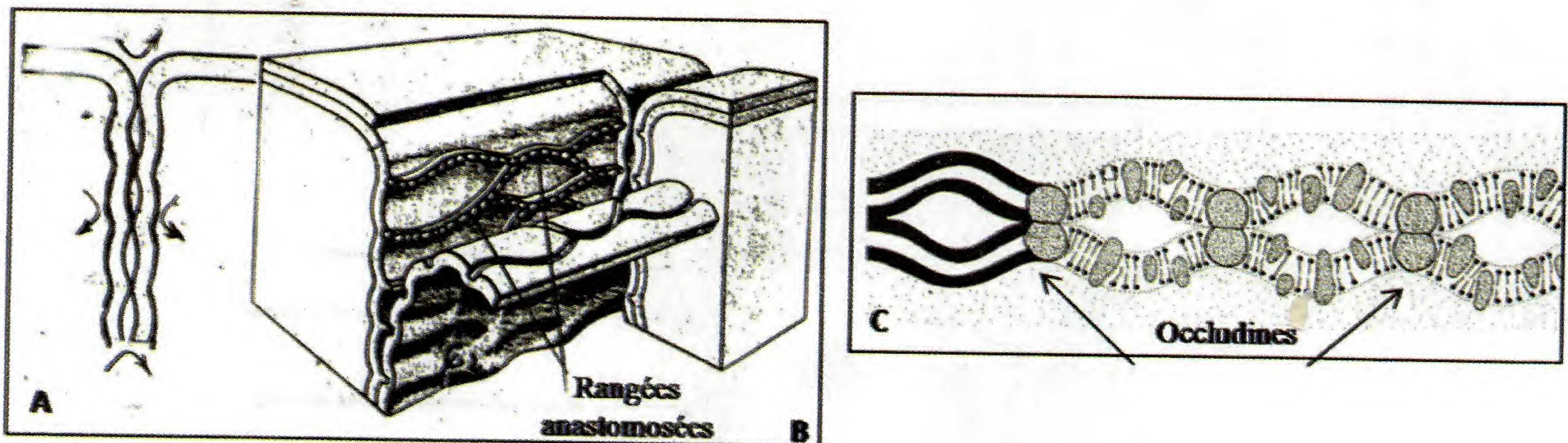


Schéma 17: Jonction imperméable : Zonula occludens

A. Aspect ultrastructural, B. Aspect après répliques, C. Organisation moléculaire

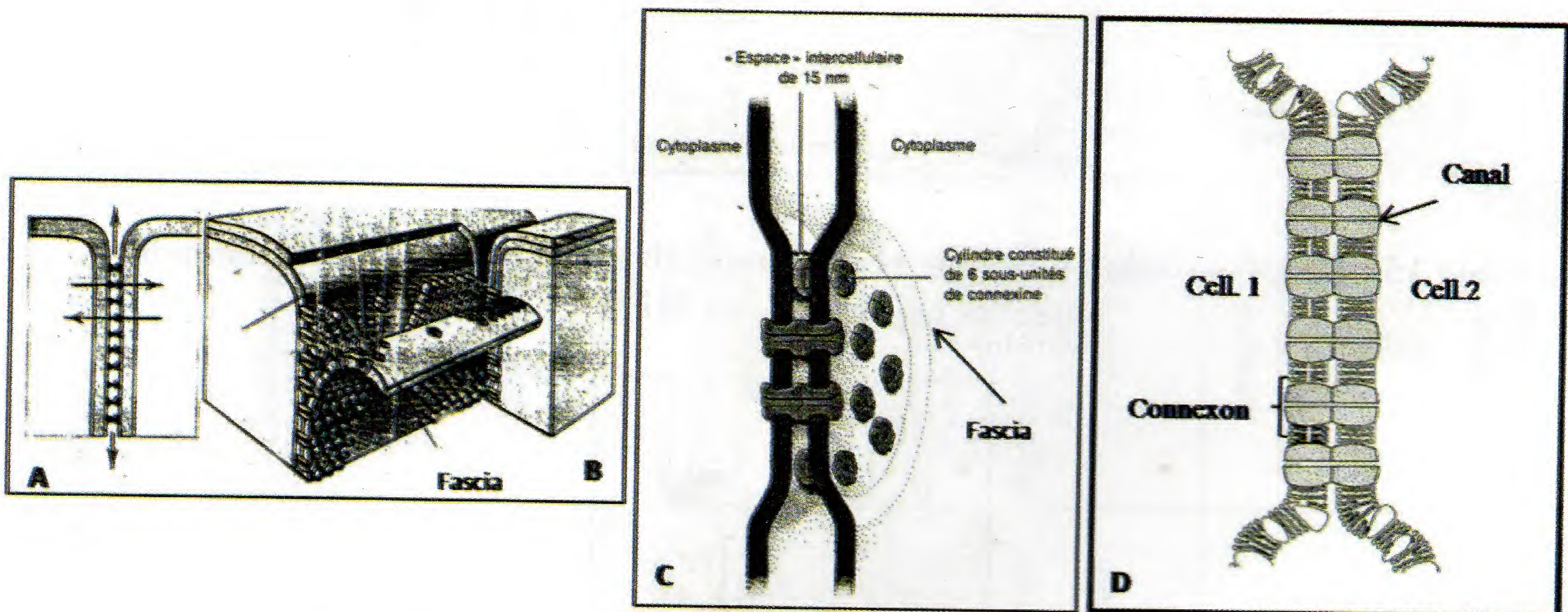


Schéma 18 : Jonction communicante : La Gap

A. Aspect ultrastructural, B. Aspect après répliques, C. Vue en coupe et de profil des connexons, D. Organisation moléculaire

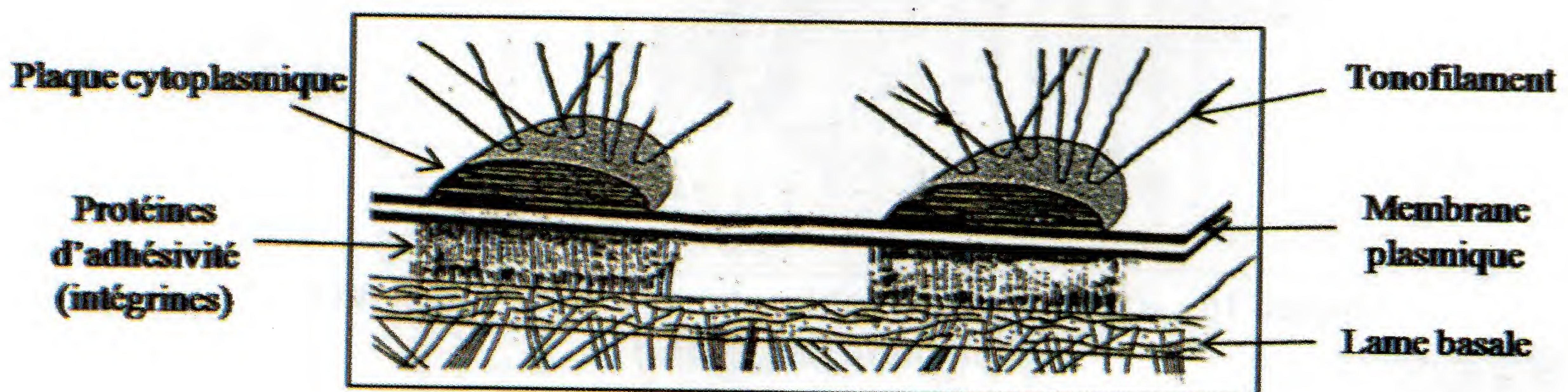


Schéma 19 : Représentation de l'aspect ultrastructural de la Jonction d'adhérence à la matrice extracellulaire : l'hémidesmosome

B/ L'ADHESIVITE CELLULAIRE

2.1 Les CAMs

On distingue deux types de CAMs selon que l'adhérence intercellulaire est Ca^{++} dépendante ou Ca^{++} indépendante. Au premier groupe appartiennent les cadhérines, les sélectines et les intégrines. Au deuxième groupe appartient la superfamille des immunoglobulines (Ig-CAMs) (*Schéma 20*)

2.1.1. Les Cadhérines

Les molécules d'adhérence sont impliquées dans des processus physiologiques tels que le phénomène d'inhibition de contact, la migration transendothéliale des leucocytes, la cicatrisation ...

Phénomène d'inhibition de contact

L'Inhibition de contact désigne le mécanisme par lequel des cellules normales mises en culture cessent de proliférer lorsqu'elles occupent toute la surface du milieu de culture. On dit que la culture a atteint le stade de la confluence ; c'est donc le contact entre les cellules qui inhibe la prolifération (d'où le terme d'inhibition de contact).

Cet arrêt des divisions est en réalité un processus complexe induit par l'expression de protéines membranaires jonctionnelles: les cadhérines (*Schéma 22*). En effet, lorsqu'une culture cellulaire est traitée par des anticorps anti- cadhérines la prolifération se poursuit. Les cadhérines qui lient les cellules entre elles, font intervenir des cascades de signalisation intracellulaires partant de ces protéines et aboutissant sur des protéines de contrôle de la prolifération.

Ainsi, les cellules cancéreuses ne sont pas sensibles au phénomène d'inhibition de contact et continuent à se multiplier même après avoir formé une couche simple.

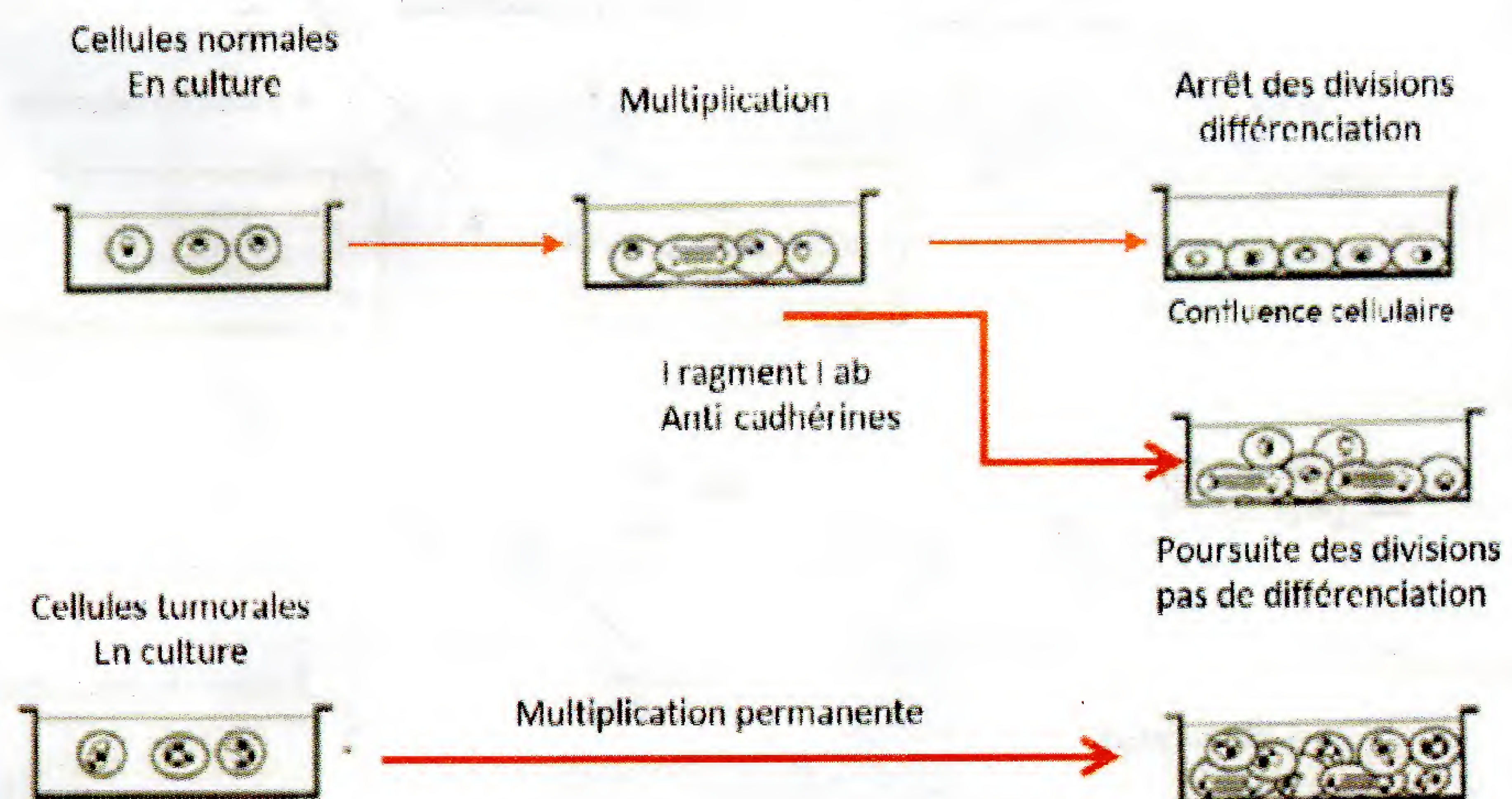


Schéma 22: Illustration du phénomène d'inhibition de contact dans une culture cellulaire

La migration transendothéliale des leucocytes :

Lors du **phénomène inflammatoire**, les leucocytes circulant quittent le système vasculaire et se regroupent dans le tissu envahi par des germes ou de particules étrangères pour les phagocyter. Ce processus se fait par la traversée de l'endothélium vasculaire en mettant en jeu les molécules d'adhérence dans un ordre qui définit les étapes suivantes :

- **Phase de circulation** : la présence de l'agent infectieux, libère des **chémokines** qui **activent** les leucocytes circulant et l'endothélium.
- **Phase d'adhésion du leucocyte** : les cellules **endothéliales** expriment d'abord des **P sélectines** ce qui attire les leucocytes circulant au contact de l'endothélium. Ceux ci y adhèrent par leurs **motifs glucidiques**.
- **Phase de roulement** : cette adhésion déclenche l'expression alternée des **P** puis des **E** sélectines par les cellules **endothéliales** et celle des **L** sélectines par les leucocytaires ces interactions étant brèves, elles induisent le **roulement** des leucocytes sur l'endothélium.
- **Phase d'aplatissement** : le roulement des leucocytes induit l'activation de leurs **intégrines** qui se lient aux **ICAMs** endothéliales. Il se produit alors un aplatissement des cellules leucocytaires
- **Phase de diapédèse (passage transendothélial)** : un **relâchement** temporaire des **jonctions** d'adhérence assurées par les **cadhérines** des cellules endothéliales permet le passage transendothélial des leucocytes vers le tissu conjonctif environnant.
- **Mouvement amiboïde** : les leucocytes se déplacent par mouvements **amiboïdes** impliquant des interactions **intégrine- molécules** de la matrice conjonctive et arrivent au contact des germes pour les neutraliser par **phagocytose**.

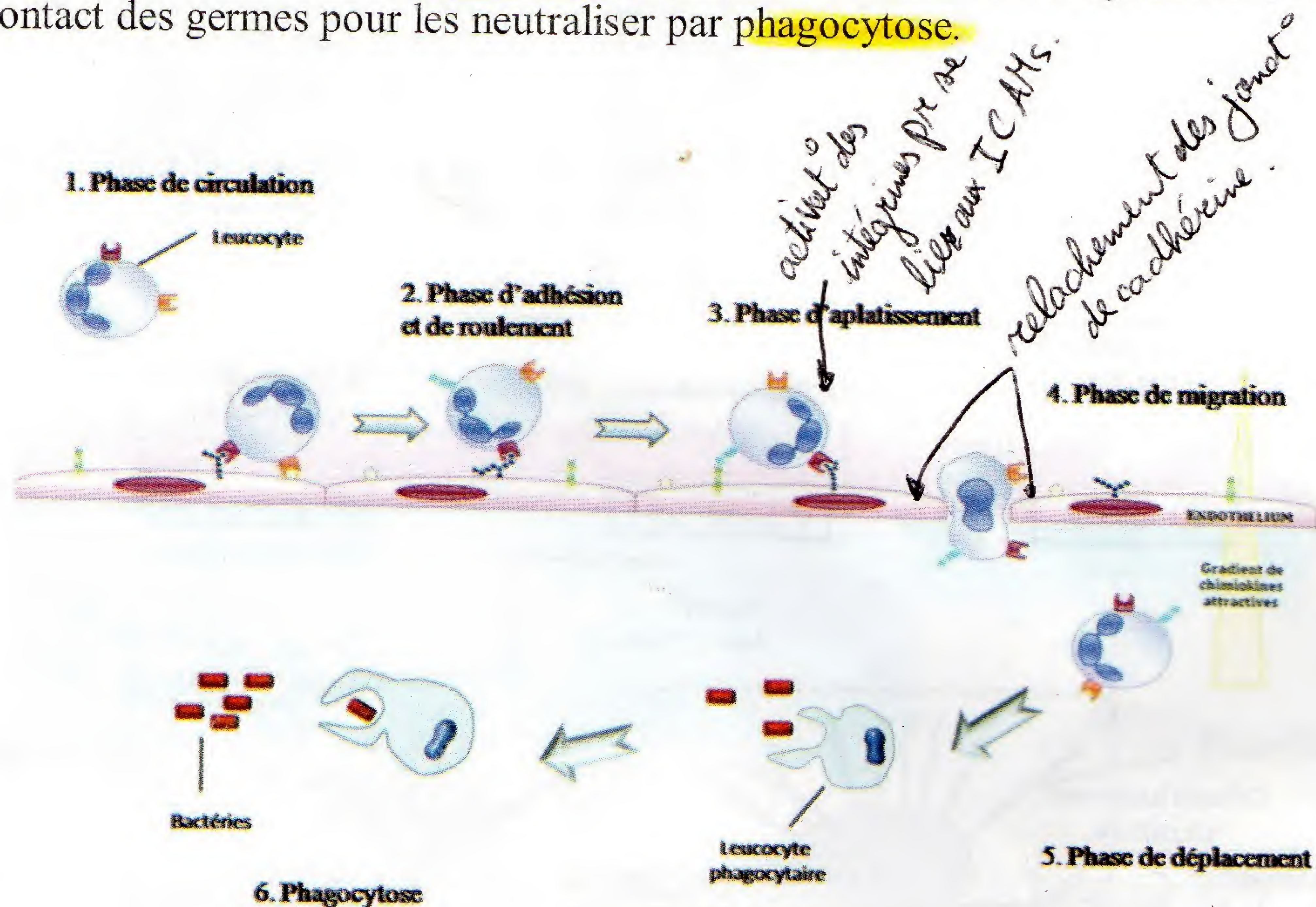


Schéma 23 : Intervention des molécules d'adhésivité au cours du processus de la migration transendothéliale

ICAM Sélectine Chémokine Récepteur aux chémokines motif glucidique Intégrine

La migration transendothéliale des leucocytes :

Lors du **phénomène inflammatoire**, les leucocytes circulant quittent le système vasculaire et se regroupent dans le tissu envahi par des germes ou de particules étrangères pour les phagocyter. Ce processus se fait par la traversée de l'endothélium vasculaire en mettant en jeu les molécules d'adhérence dans un ordre qui définit les étapes suivantes :

- **Phase de circulation** : la présence de l'agent infectieux, libère des **chémokines** qui **activent** les leucocytes circulant et l'**endothélium**.
- **Phase d'adhésion du leucocyte** : les cellules **endothéliales** expriment d'abord des **P sélectines** ce qui attire les leucocytes circulant au contact de l'endothélium. Ceux ci y adhèrent par leurs **motifs glucidiques**.
- **Phase de roulement** : cette adhésion déclenche l'expression alternée des **P** puis des **E** sélectines par les cellules **endothéliales** et celle des **L** sélectines par les leucocytaires ces interactions étant brèves, elles induisent le **roulement** des leucocytes sur l'**endothélium**.
- **Phase d'aplatissement** : le roulement des leucocytes induit l'activation de leurs **intégrines** qui se lient aux **ICAMs** endothéliales. Il se produit alors un aplatissement des cellules leucocytaires
- **Phase de diapédèse (passage transendothélial)** : un **relâchement** temporaire des **jonctions d'adhérence** assurées par les **cadhérines** des cellules endothéliales permet le **passage transendothélial** des leucocytes vers le tissu conjonctif environnant.
- **Mouvement amiboïde** : les leucocytes se déplacent par mouvements **amiboïdes** impliquant des interactions **intégrine- molécules** de la matrice conjonctive et arrivent au contact des germes pour les neutraliser par **phagocytose**.

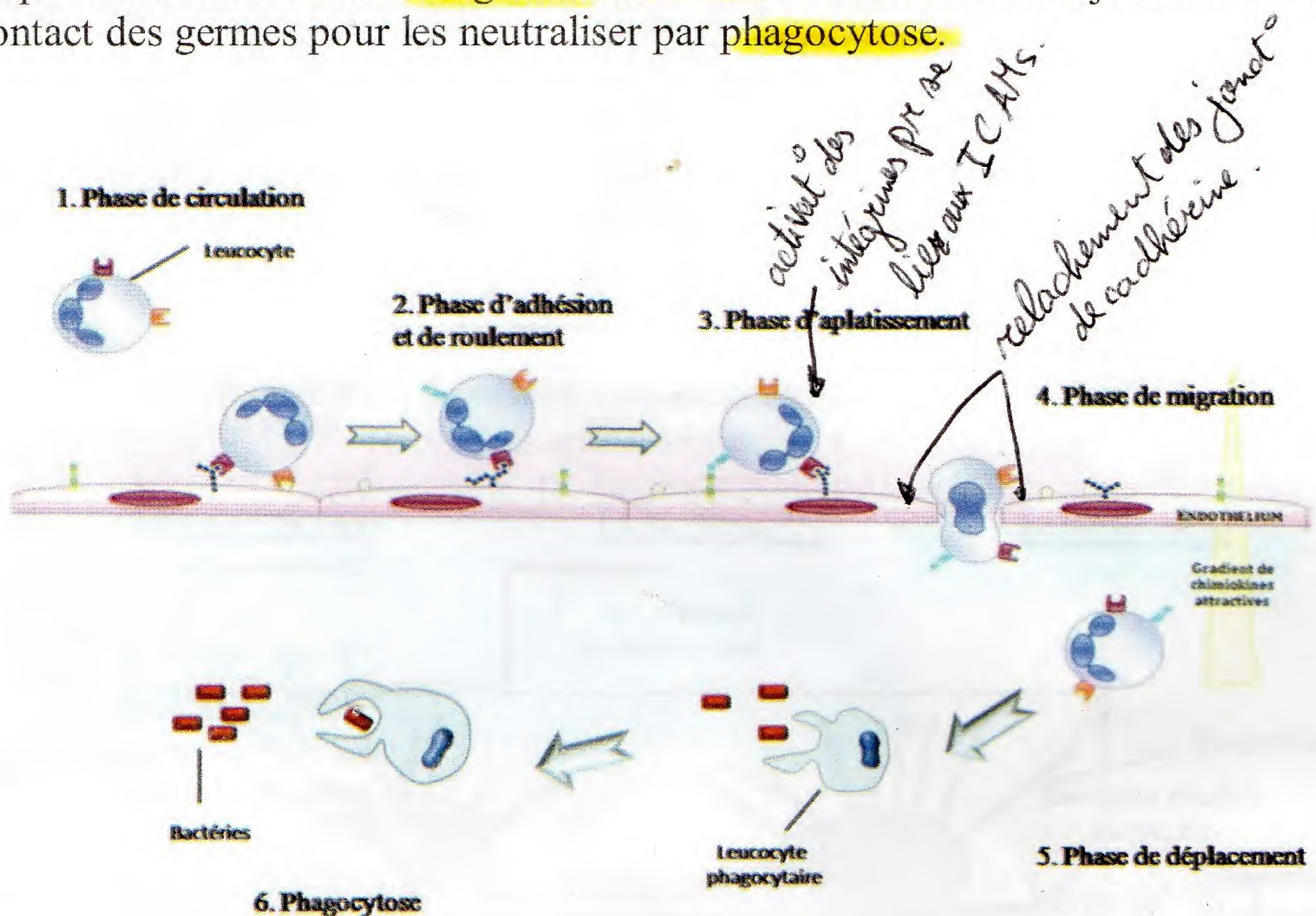


Schéma 23 : Intervention des molécules d'adhésivité au cours du processus de la migration transendothéliale

cadhérines agissent
en dimères (2 par 2)

Chapitre III La membrane plasmique

<p>Cadhérines</p>	<p>Motif glucidique</p> <p>Sélectine</p>	<p>MEC</p> <p>Ig-CAM</p>	<p>Leucocyte</p> <p>MIC</p> <p>Intégrine</p> <p>ICAM</p> <p>MEC</p> <p>endothéliale</p> <p>Intégrine 4-4</p>	<p>MIC</p> <p>Collagène</p> <p>MEC</p>	<p>1. Cadhérines: interactions permanentes homotypiques homophiles</p> <p>2. Sélectines : interactions transitoires brèves, hétérotypiques hétérophiles</p> <p>3. Immunoglobulines : interactions souvent permanentes, homotypiques homophiles</p> <p>4. Intégrines: interactions transitoires, hétérotypiques hétérophiles</p> <p>5. Intégrines: interactions permanentes hétérotypiques hétérophiles</p>
-------------------	--	--------------------------	--	--	--

Schéma 20 : Molécules d'adhérence cellulaires et variabilité de leurs interactions de 1 à 4 (CAMs) et 5 (SAMs)

LA PERMEABILITE CELLULAIRE

1.1 Les transport perméatif passifs

1.1.3 La diffusion facilitée

Les perméases: sont une classe de protéines transmembranaires assurant les échanges de molécules entre les cellules. Elles sont caractérisées par un ou plusieurs sites spécifiques et douées d'allostérie c'est à dire la propriété de changer d'orientation au cours du transport. Ces protéines peuvent également être inhibées par compétition entre leurs ligands et des molécules analogues. Ces perméases assurent le transport des sucres simples et des acides aminés dans les cellules.

Remarque : le transport actif des ions et celui des molécules couplées aux ions se fait également par des perméases (voir transports perméatifs actifs).

Nous prendrons l'exemple des perméases assurant la diffusion du glucose : les GLUT (*GLUCOSE* à transporter).

Les perméases GLUT, existent à la surface de toutes les cellules et fonctionnent dans les deux sens : entrée et sortie du glucose en fonction du gradient de concentration..

Il existe de nombreuses isoformes des perméases GLUT qui constituent, chez l'homme, une famille de 14 transporteurs d'hexoses (GLUT1 à GLUT14).

Cas des GLUT 1 :

Ces perméases sont exprimés en permanence au niveau de la membrane plasmique de la majorité des cellules. Elles assurent le transport basal du glucose. Leur site spécifique est orienté vers le milieu extracellulaire.

Leur mécanisme de fonctionnement est illustré pour les érythrocytes (*Schéma 24*) :

1. la molécule de glucose se fixe à son site spécifique, il ya alors formation d'un complexe glucose-perméase.
2. un changement conformationnel s'opère dans la perméase ce qui amène le glucose du côté intracellulaire. Le complexe se dissocie et le glucose est libéré dans la cellule,
3. la perméase reprend alors sa conformation initiale et un autre cycle de transport reprend.

Dans ce cas, c'est le nombre de GLUT1 libres dans la membrane qui constitue le facteur limitant du transport.

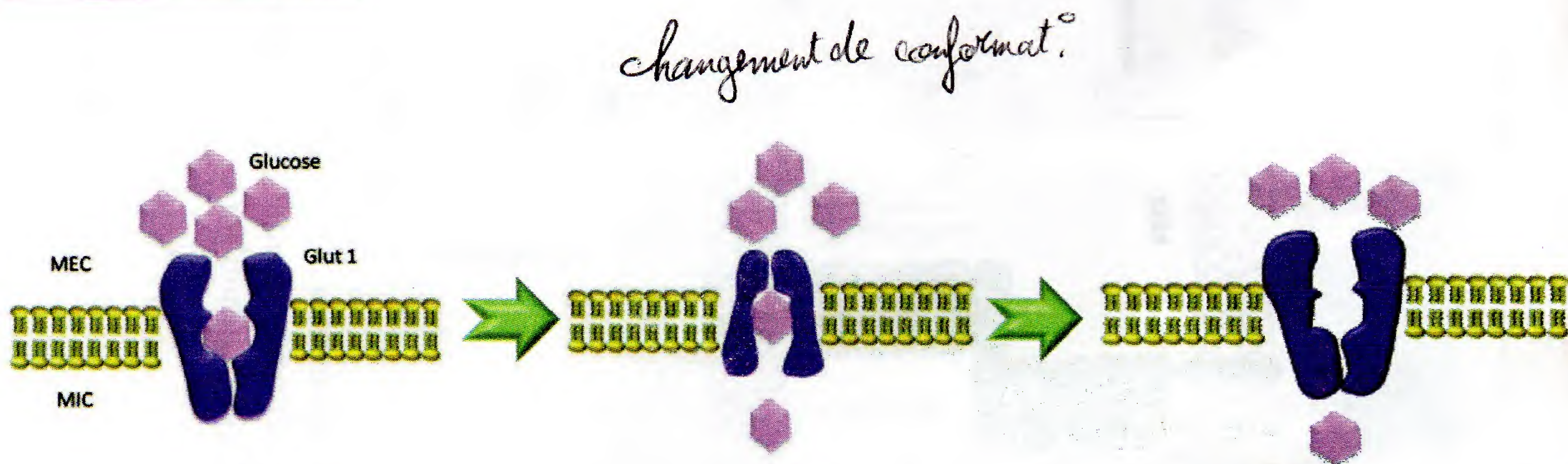


Schéma 24 : Mécanisme de transport basal du glucose par les GLUT 1

en cas d'hyperglycémie, c'est les α & β du pancréas qui seront stimulées.

Cas des GLUT 4 :

Ces transporteurs sont essentiellement présents dans les tissus insulino-dépendants comme le tissu adipeux et le tissu musculaire squelettique.

Les adipocytes sont chargés de stocker l'excès de glucose circulant sous forme de triglycérides. Avant stimulation de la cellule, les GLUT 4 se trouvent au niveau de membranes de vésicules intracellulaires. Leur expression au niveau de la membrane plasmique est consécutive au signal insuline (Schéma 25).

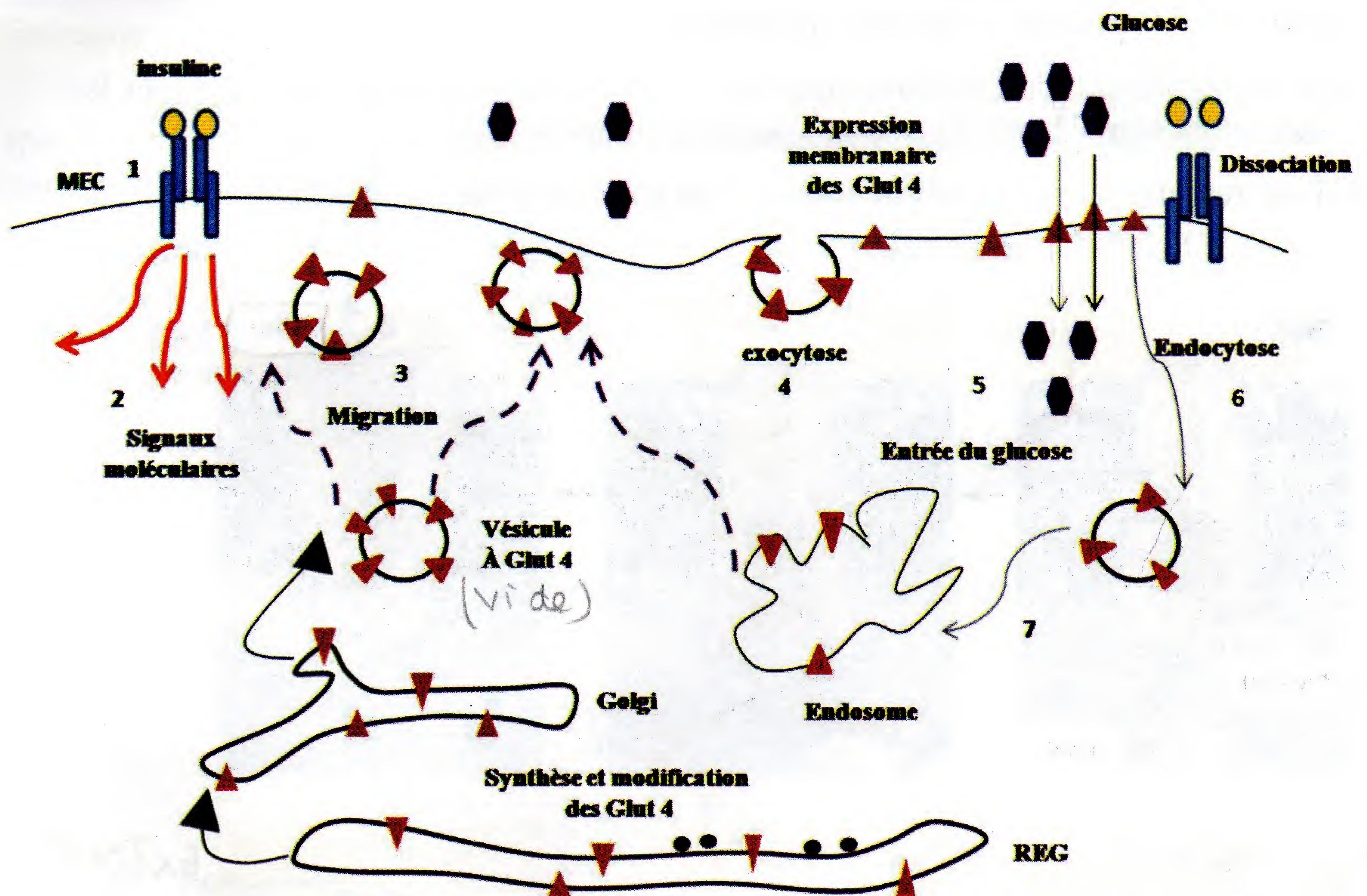


Schéma 25 : Mécanisme de transport contrôlé du glucose dans les adipocytes

La fixation de l'insuline à son récepteur (1) induit une cascade de signalisation (2) qui aboutit à la migration (3) des vésicules à Glut 4 vers la membrane plasmique et leur exocytose (4). Les Glut 4 s'expriment alors au niveau de la membrane plasmique et assurent la diffusion du glucose dans la cellule (5). Le détachement de l'insuline de son récepteur active l'internalisation des GLUT 4 par endocytose (6) et leur dégradation, dans les lysosomes après fusion à l'endosome (7).

1.2 Les transports perméatif actifs

1.2.1 Le transport actif primaire.

Cas de l'ATPase Na^+/K^+ (pompe Na^+/K^+ dépendante): le schéma 26 illustre le mécanisme de fonctionnement de la pompe Na^+/K^+ .

L'activité de transport des ions Na^+ et K^+ par l'ATPase commence par la fixation de 3 ions Na^+ sur leurs sites spécifiques situés sur la face cytosolique de la protéine membranaire.

Cette fixation active la phosphorylation de l'ATPase par hydrolyse d'une molécule d'ATP ce qui modifie sa conformation et réduit l'affinité de liaison des ions Na^+ . En conséquence, les 3 Na^+ sont libérés dans le milieu extracellulaire. Simultanément, les sites spécifiques au K^+ situés sur la face extracellulaire deviennent accessibles.

La fixation des 2 ions K^+ induit un changement conformationnel de l'ATPase entraînant une perte de son affinité pour le groupement phosphate.

La déphosphorylation de l'ATPase entraîne à son tour une baisse de l'affinité pour les ions K^+ . Ceux-ci sont alors libérés dans le milieu intracellulaire.

L'ATPase reprend sa conformation initiale et un autre cycle de transport reprend.

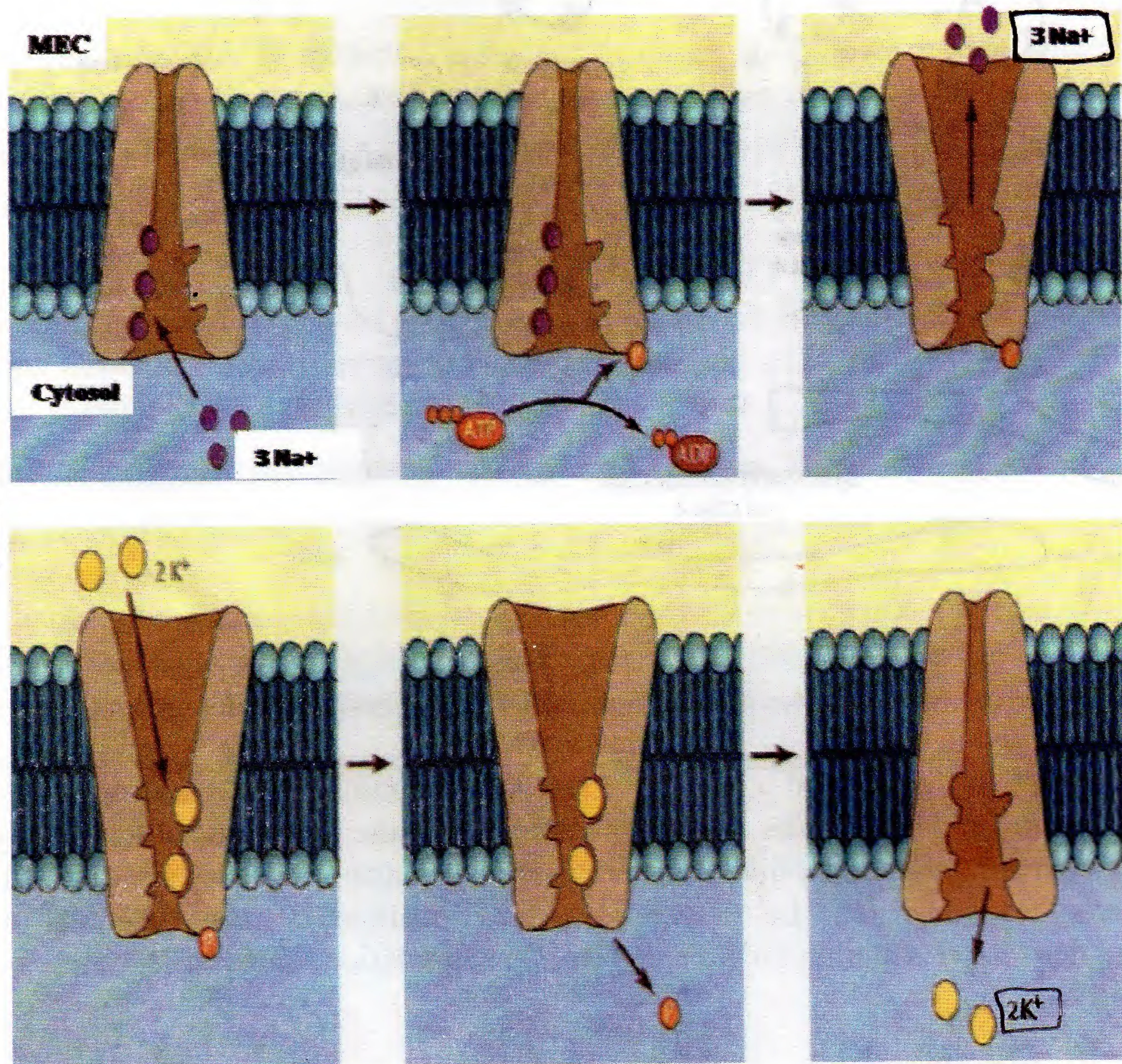


Schéma 26: Mode de fonctionnement de l'ATPase Na^+/K^+ dépendante

1.2.2 Le transport actif secondaire ou le co-transport

Exemple de symport :

Transport du glucose dans les cellules intestinales ou rénales (Schéma 27).

Le glucose provenant de la digestion se trouve d'abord dans la lumière de l'intestin. Pour être distribué aux différentes cellules de l'organisme, il doit rejoindre la circulation générale. La cavité intestinale est bordée par les entérocytes qui se chargent de faire passer le glucose de la lumière vers le sang.

Les entérocytes sont des cellules épithéliales polarisées, leur membrane apicale porte des perméases d'entrée du glucose et leur membrane basale porte des perméases permettant sa libération.

Les perméases du pôle apical portent un site spécifique au glucose et deux sites spécifiques au Na^+ . Ainsi, l'entrée du glucose est couplée à celle de l'ion Na^+ . Ces transporteurs sont appelés perméases symport du glucose (SGLUT).

Au cours de ce transport, deux ions Na^+ se fixent passivement à la SGLUT ce qui réduit le gradient de cet ion dans le milieu extracellulaire et l'augmente dans le milieu intracellulaire : on parle alors de formation d'un gradient sodique. Ceci crée une force assurant la translocation active du glucose depuis la lumière vers le milieu intracellulaire.

Les molécules de glucose seront ensuite transloquées vers le milieu extracellulaire basal via des perméases de diffusion facilitée : des GLUT 2 dont les sites spécifiques sont orientés vers le milieu intracellulaire.

Le pôle basal porte également des ATPases qui se chargent de pomper le Na^+ dans le milieu extracellulaire.

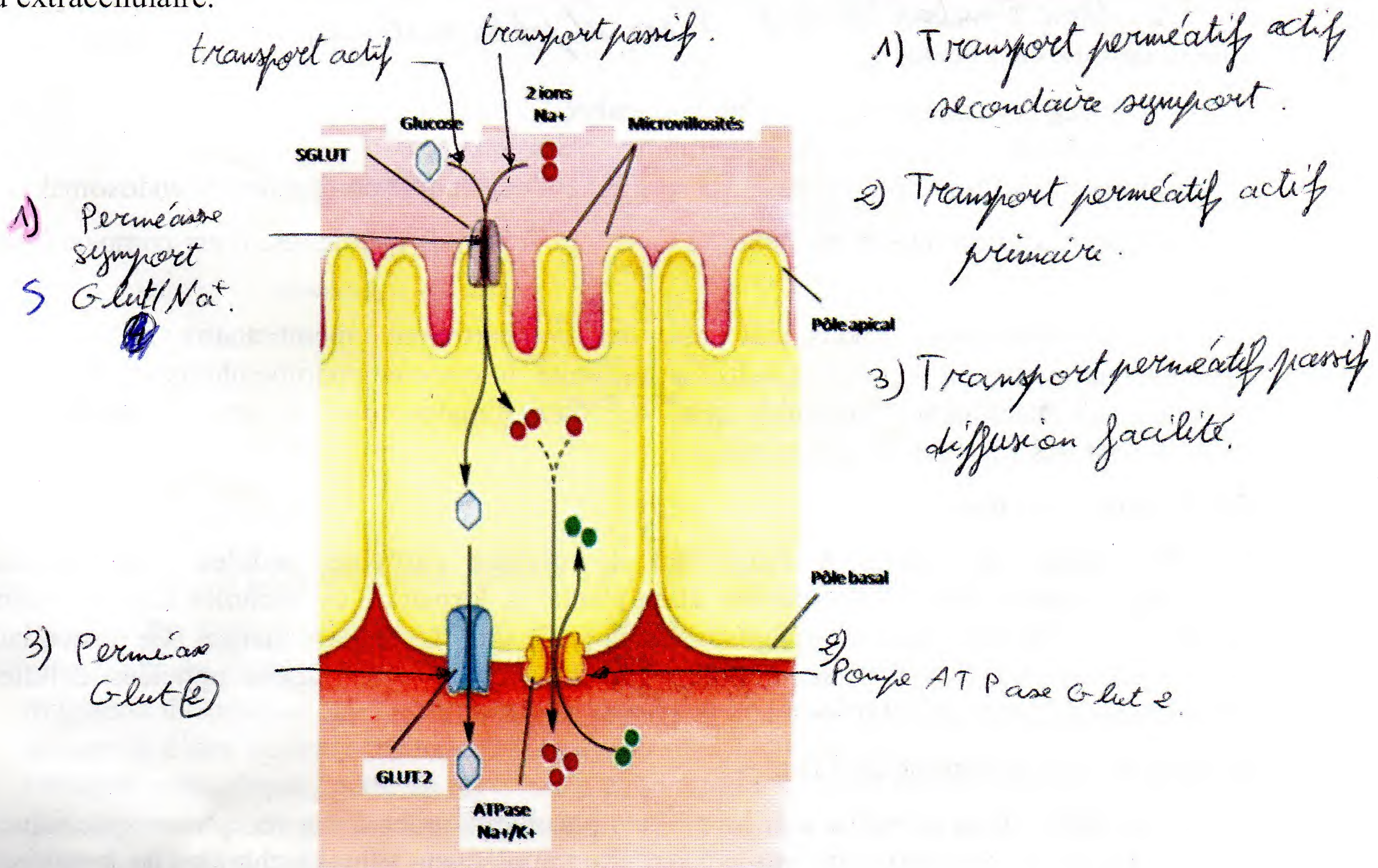


Schéma 27 : Transport du glucose dans les cellules intestinales et rénales

2- LES TRANSPORTS CYTOTIQUES

Au cours de ces transports, les matériaux (molécules, substances....) sont contenus dans des compartiments (vésicules ou vacuoles) appartenant au système endomembranaire.

Les déplacements de ces compartiments nécessitent l'intervention du cytosquelette et consomment de l'énergie.

Ils sont classés selon le sens de déplacement des molécules en endocytose et exocytose (schéma fascicule 1 p. 59).

2.1 L'endocytose

C'est le phénomène par lequel la cellule retient une fraction du volume extracellulaire à l'intérieur d'un compartiment membranaire intracellulaire.

L'endocytose sera classée selon les critères suivants :

- le volume endocyté
- la présence ou non d'un revêtement protéique sur la face cytosolique des sites d'endocytose
- la nature chimique des éléments internalisés

Ainsi on distingue 3 types d'endocytose : la pinocytose, la phagocytose et l'endocytose par récepteurs.

2.1.1 La pinocytose

Ce processus correspond à l'ingestion d'un faible volume de molécules en solution dans des vésicules d'un diamètre de 100 nm. On dit que la cellule boit (schéma du fascicule 1 p.59). *Intérêt : nutriments de la ϕ , l'eau et petites molécules.*

Elle se déroule en 3 étapes :

- piégeage des particules grâce au glycocalyx
- dépression et pincement de la membrane plasmique
- formation d'une vésicule lisse qui sera acheminée vers le compartiment endosomal

Ce processus se fait en permanence dans tous les types cellulaires, il est compensé par l'exocytose.

Le compartiment endosomal est un compartiment membranaire pourvu de prolongements tubulaires ; il est localisé à proximité du système endomembranaire. C'est un territoire où fusionnent l'ensemble des vésicules d'endocytose. Il est continuellement alimenté par des vésicules à hydrolases.

2.1.2 La phagocytose

Ce phénomène correspond à l'ingestion de grosses particules solides comme les microorganismes et les cellules mortes. Il en résulte la formation de vacuoles d'un diamètre supérieur à 250 nm appelés phagosomes. On dit que la cellule mange. Ce processus consomme de l'énergie ; il est effectué par des cellules spécialisées appelées cellules phagocytaires représentés par les macrophages et certains leucocytes.

La phagocytose se déroule en 4 étapes :

- adhésion de la particule à la membrane plasmique grâce à des récepteurs spécifiques (région Fc des anticorps, composants du complément, oligosaccharides de la surface de certains microorganismes ou encore le signal apoptique).
- formation de voiles hyaloplasmiques par déformation du cytosquelette

- séquestration de la particule et formation du phagosome (vacuole de phagocytose)
- fusion avec les vésicules à hydrolases et hydrolyse du contenu

NB : les bactéries encapsulées ne sont pas phagocytées.

2.1.3 L'endocytose par récepteurs

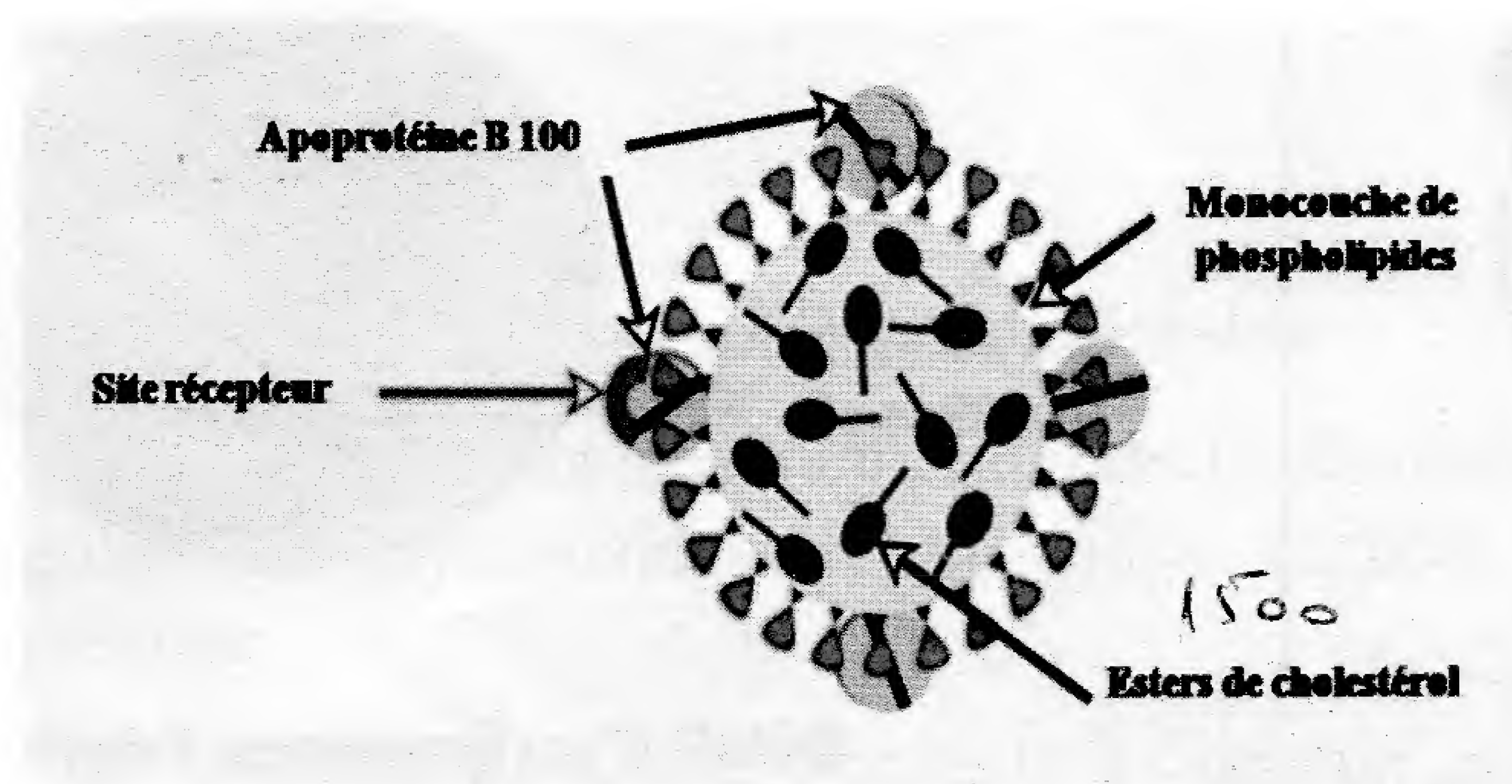
Ce phénomène se produit au niveau des régions spécifiques de la membrane plasmique comportant des protéines transmembranaires, jouant le rôle de récepteurs. Ces régions sont tapissées de protéines cytosoliques formant un revêtement. Selon la nature de ce dernier, on distingue une endocytose par récepteurs dépendante de la clathrine et une endocytose par récepteurs indépendante de la clathrine.

2.1.3.1 Endocytose par récepteurs dépendante de la clathrine

C'est une voie d'absorption efficace de macromolécules spécifiques présentes en faible quantité dans le liquide extracellulaire. Ce processus donne naissance à des vésicules recouvertes de clathrine. Il intervient dans :

- l'internalisation du complexe hormone polypeptidique- récepteur pour l'arrêt de la réponse (*récepteur guanine, ou pour signaliser \Rightarrow récepteur insuline*).
- le transport des anticorps de la mère vers son bébé au cours de la lactation.
- le transport du cholestérol sous forme de LDL vers les différents types cellulaires pour le renouvellement des membranes (*Schéma 20 couleur*).

Les LDL sont des particules lipoprotéiques de basse densité, composés chacune d'un cœur renfermant 1500 molécules d'esters de cholestérol entouré par une monocouche lipidique renfermant 800 molécules de phospholipides, de 500 molécules de cholestérol et d'une molécule protéique : l'Apo B reconnue par un récepteur membranaire spécifique (voir schéma ci après).

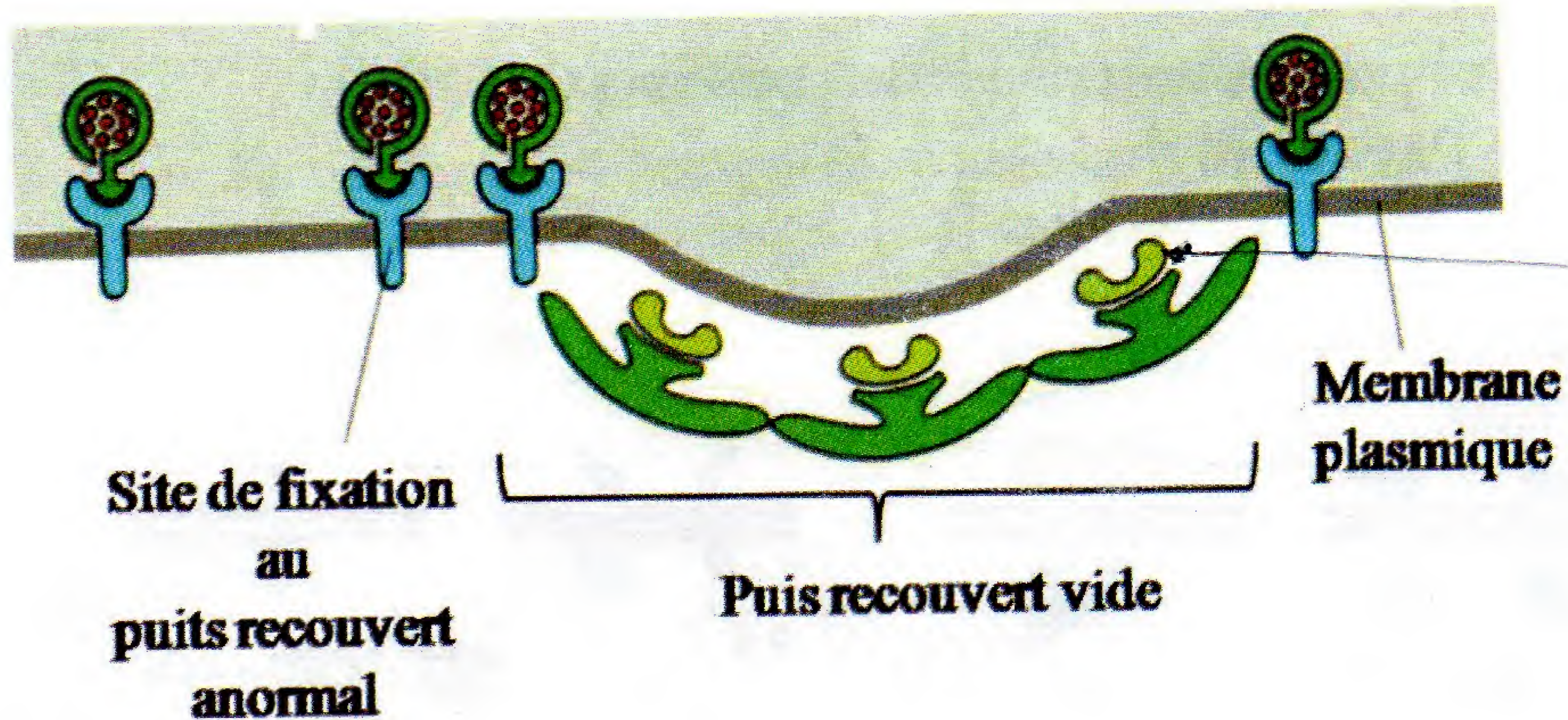
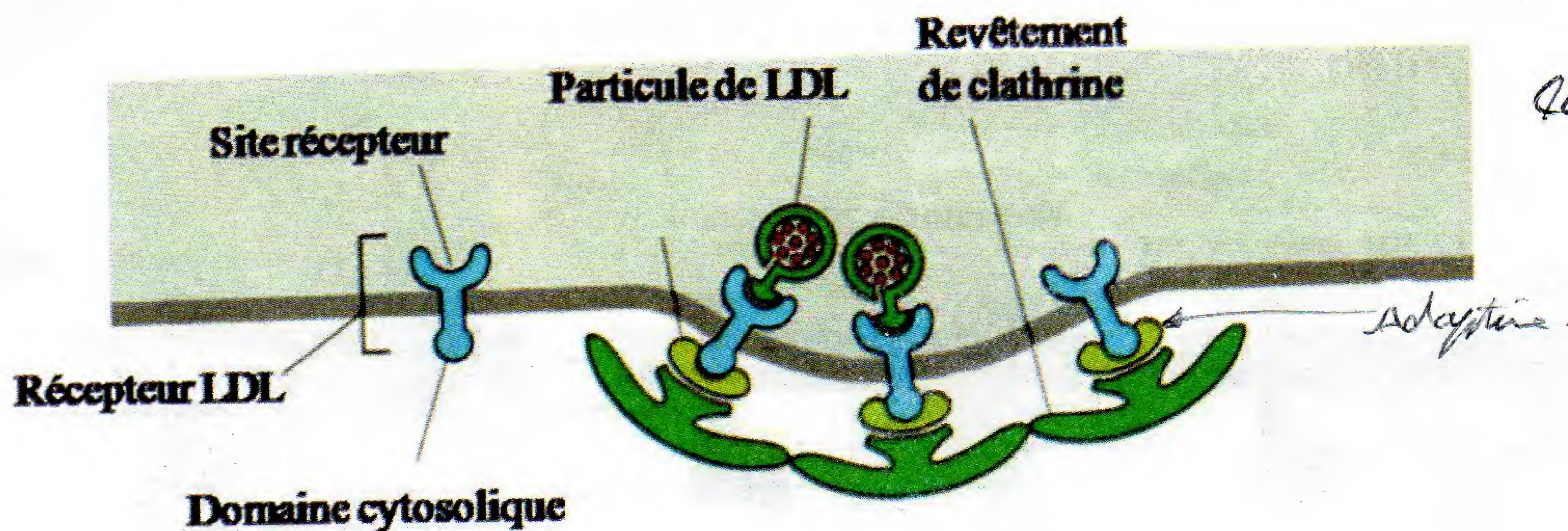


L'endocytose des LDL se déroule comme suit :

- fixation des LDL à leurs récepteurs membranaires, déjà préparés au niveau de puits recouverts de clathrine (dans d'autres cas, c'est la fixation du ligand qui entraîne la migration du complexe L-R par diffusion vers les puits recouverts).
- isolement d'une vésicule recouverte de clathrine (vésicule épineuse).
- transport cytosolique, perte du revêtement de clathrine et fusion de l'endosome.
- dissociation du complexe ligand-récepteur par acidification du milieu endosomal grâce à un apport continu de vésicules à hydrolases acides.
- recyclage des récepteurs par les compartiments tubulaires et dégradation des LDL sous l'effet des hydrolases dans les lysosomes.

Il existe deux formes de mutation :

- 1^{ère} forme : absence de récepteurs aux LDL, ces derniers ne se fixent pas aux cellules.
- 2^{ème} forme : les récepteurs aux LDL existent mais ne se rassemblent pas en puits recouverts (voir schéma ci-dessous) car ils sont unifiés du côté cytosolique.



2.1.3.2 Endocytose par récepteurs indépendante de la clathrine

Elle a lieu au niveau des microdomaines membranaires (rafts /radeaux lipidiques) riches en cholestérol, sphingolipides, gangliosides et protéines ancrées au GPI et tapissés intérieurement par la cavéoline.

La cavéoline est une protéine en forme d'épingle à cheveux qui se lie au cholestérol dans les microdomaines ; la dépression qu'elle entraîne est dite cavéole. Après pincement cette dernière donne naissance à des vésicules mesurant 50 à 100 nm de diamètre.

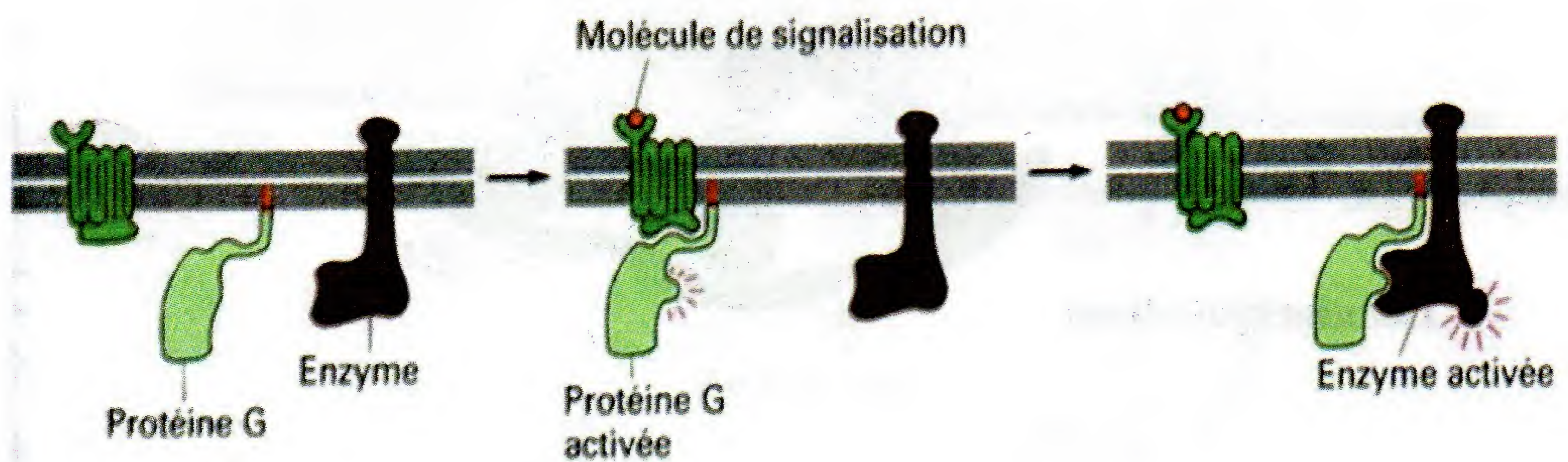
Ce processus constitue chez l'homme une voie d'infection cellulaire par certaines toxines bactériennes (toxines du choléra) ou par certains virus et serait également une voie de signalisation cellulaire ou d'inhibition de la réponse cellulaire.

2.2 L'Exocytose

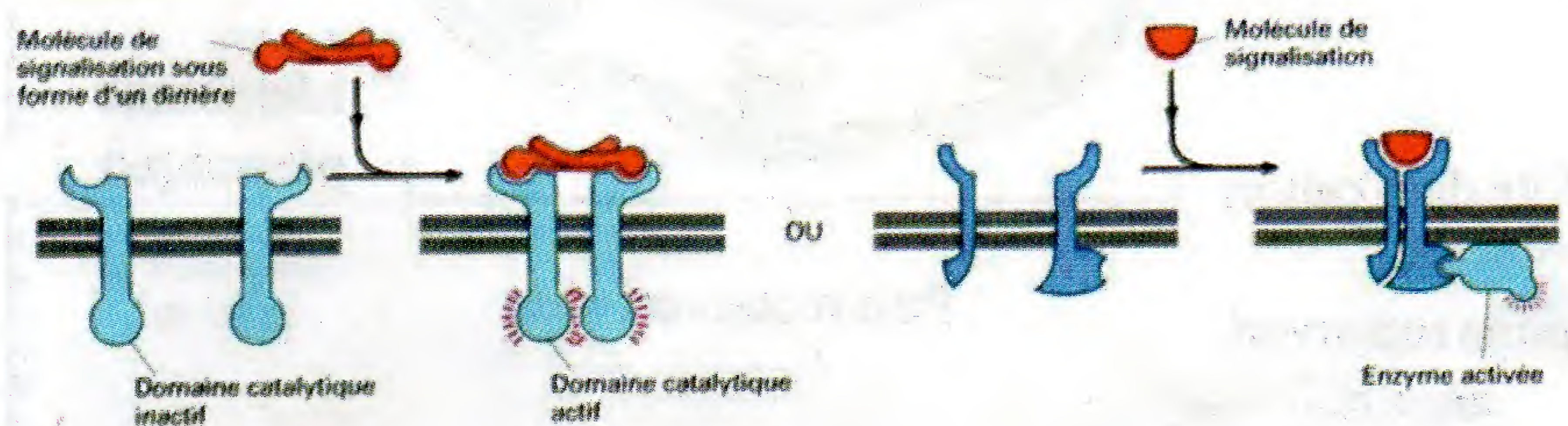
C'est le phénomène inverse de l'endocytose. On distingue deux types d'exocytose : l'exocytose constitutive et l'exocytose régulée (voir Chapitre V : le Système Endomembranaire).

D/ LA COMMUNICATION INTERCELLULAIRE NOTION DE RECEPTEURS MEMBRANAIRES

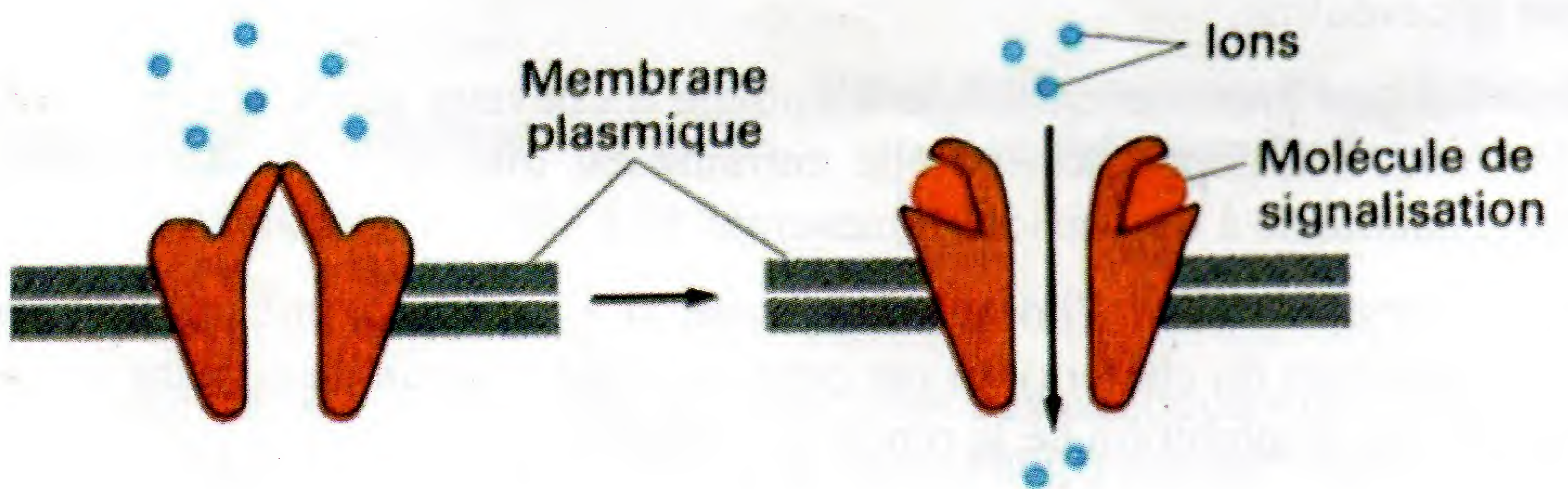
2. CLASSIFICATION DES RECEPTEURS MEMBRANAIRES



Récepteurs couplés aux protéines G (GPCR)



Récepteurs enzymes catalytiques



Récepteurs canaux ligands dépendants

Schéma 29 : Variabilités organisationnelles des récepteurs membranaires

Rq: La dimerisation peut être structurale alors que dans le cas de récepteurs de facteurs de croissance, il se dimérise à l'état activé.

état inactif. *Dimérisation structurale*

état activé.

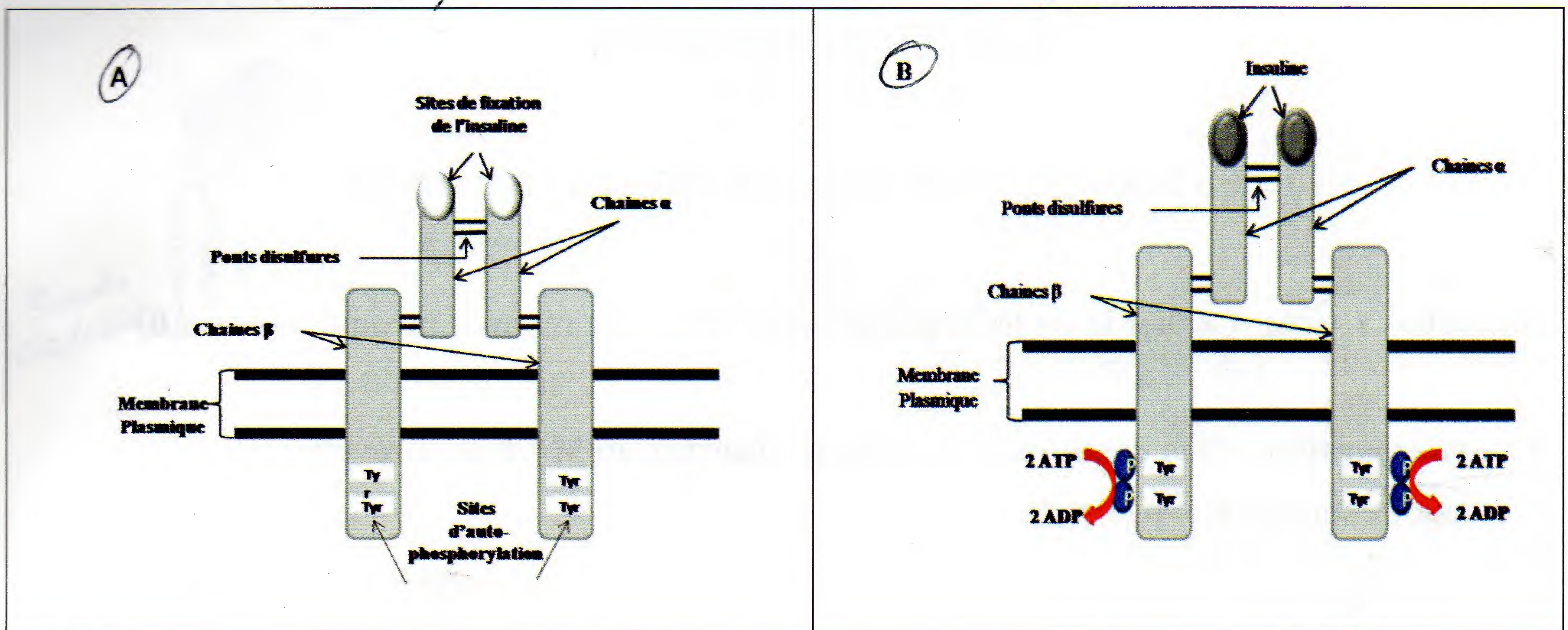


Schéma 30: Structure dimérique du récepteur à l'insuline.

A. état de repos, B. état activé

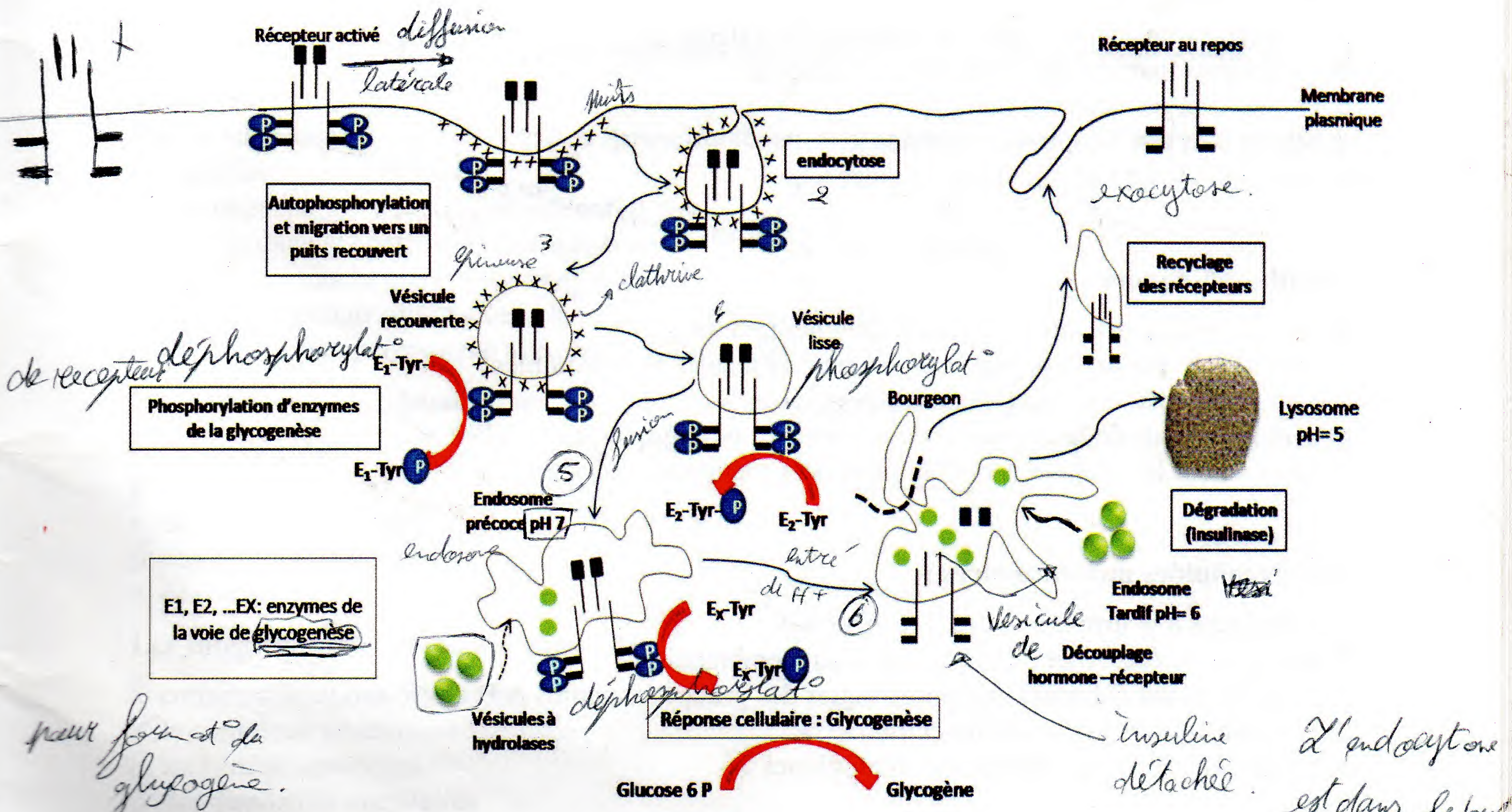


Schéma 31: Mode d'activation d'un récepteur Tyrosine kinase par son ligand : cas du récepteur à l'insuline dans la cellule hépatique.

As always le récepteur est lié à l'insuline, il se phosphoryle.

d'endocytose est dans le but de phosphoryler les récepteurs.

Test d'autoévaluation

ULTRASTRUCTURE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE

QUESTION I QCM: Cocher la ou les réponses correctes. Une réponse incomplète vaut 0.

MF Une micrographie de la membrane plasmique observée au MET peut révéler :

- a. un cortex sous membranaire ✓
- b. un glycocalyx externe ✓
- c. des particules globulaires ✗
- d. une structure trilamellaire ✓
- e. une asymétrie biochimique ✗

Les glycolipides sont :

- a. présents exclusivement dans la monocouche externe ✓
- b. caractérisés par des mouvements de bascule ✗
- c. parfois chargés négativement ✓
- d. représentés par les sphingomyélines ✗
- e. mis en évidence par immunofluorescence ✗

*analyse
biochimique*

spécifique aux protéines membranaires ou hyaloplasmiques

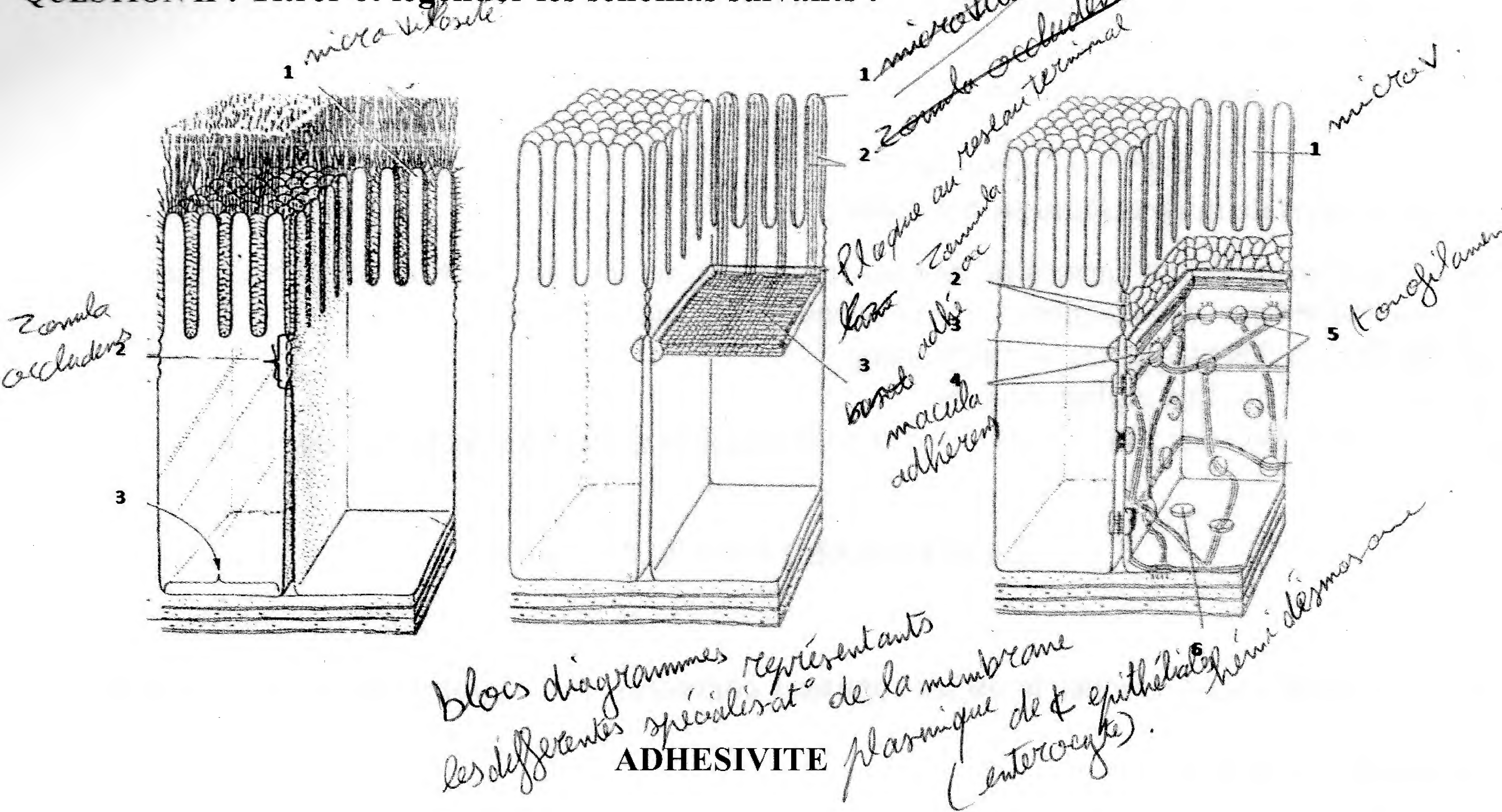
Les phospholipides :

- a. déterminent la structure de base des biomembranes ✓
- b. constituent une barrière imperméable aux molécules hydrosolubles ✓
- c. sont révélés par la technique de RMN ✗
- d. sont à l'origine de la formation de membranes biologiques artificielles ✓
- e. déterminent les propriétés biochimiques des membranes plasmiques ✓

Les glycolipides membranaires :

- a. participent à la formation du glycocalyx ✓
- b. assurent un rôle structural du cortex sous membranaire ✗
- c. constituent des déterminants antigéniques des groupes sanguins A,B,O ✓
- d. déterminent une asymétrie biochimique ✓
- e. composent toutes les membranes biologiques ✓

QUESTION II : Titrer et légender les schémas suivants :



QUESTION III QCM: Cocher la ou les réponses correctes. Une réponse incomplète vaut 0.

Les Cadhérines et les Sélectines présentent en commun certaines caractéristiques. Lesquelles ?

- ☒ a. une dépendance au calcium extracellulaire
- ☒ b. un rôle dans le contrôle de la croissance
- ☒ c. une nature biochimique similaire (gp transmembranaires)
- ☐ d. une participation simultanée à la migration transendothéliale
- ☐ e. une interaction permanente avec leurs ligands respectifs

Les Sélectines sont visualisables par immunofluorescence à la surface :

- ☒ a. des leucocytes
- ☒ b. des cellules endothéliales vasculaires
- ☐ c. des tissus épithéliaux
- ☒ d. des cellules sanguines
- ☐ e. des cellules eucaryotes

Les Intégrines sont présentes dans :

- ☒ a. certaines jonctions adhérentes
- ☒ b. le complexe jonctionnel
- ☒ c. les hémidesmosomes
- ☐ d. des dispositifs maculaires
- ☒ e. les faces basales de la membrane plasmique

Les Ig :

- a. sont activables par le Ca^{++}
- ☒ b. peuvent interagir avec les intégrines
- ☒ c. sont localisées dans les membranes synaptiques
- ☒ d. apparaissent dès la neurogénèse
- ☒ e. sont portées par les membranes gliales

agrégat plaquettaire

Le processus de la cicatrisation nécessite :

- ☒ a. une activation des intégrines membranaires des plaquettes sous l'action des chémokines
- ☒ b. un attachement des plaquettes à la fibronectine du site de lésion
- ☒ c. une liaison des plaquettes au fibrinogène
- ☒ d. une formation d'un caillot sanguin
- ☒ e. une interaction des sous unités α et β des intégrines membranaires des leucocytes

LA PERMEABILITE CELLULAIRE**QUESTION IV QCM: Cocher la ou les réponses correctes. Une réponse incomplète vaut 0.****Le puits recouvert :**

- ☒ a. est un compartiment de fusion des vésicules d'exocytose constitutive
- ☒ b. permet la formation de vésicules recouvertes de cavéolines
- ☒ c. permet l'internalisation des complexes anticorps-récepteurs chez le nourrisson
- ☒ d. assure un transport actif après activation du cytosquelette
- ☒ e. est une voie d'entrée des lipoprotéines de faible densité *LDL*

Les vésicules à hydrolases :

- ☒ a. constituent un compartiment d'hydrolyses enzymatiques *q d elle fusionne avec l'endosome, elle lui donne des pompes*
- ☒ b. assurent l'acidification du contenu endosomal *elle lui donne des pompes*
- ☒ c. portent des pompes à protons membranaires *elle devient active et peut hydrolyser*
- ☒ d. assurent la dégradation des LDL
- ☒ e. fusionnent directement avec les phagosomes

L'endosome tardif est un compartiment :

- ☒ a. de fusion des vésicules d'endocytose par clathrine
- ☒ b. de recyclage des protéines transmembranaires
- ☒ c. de regroupement des vésicules lisses de 100 nm
- ☒ d. récepteur de vésicules à hydrolases
- ☒ e. de découplage ligand-récepteur

Les phagosomes sont des compartiments membranaires :

- ☒ a. observés exclusivement dans les cellules phagocytaires
- ☒ b. fusionnant avec le compartiment endosomal

- ✓ c. évoluant en lysosomes
- ✓ d. renfermant des macromolécules exogènes ou des bactéries
- ✗ e. recouverts de clathrine

COMMUNICATIONS CELLULAIRES

QUESTION V QCM: Cocher la ou les réponses correctes. Une réponse incomplète vaut 0.

Une communication intercellulaire nécessite toujours une :

- a. production de molécules signal ✓
- b. transmission de signal ✓
- c. activation des protéines kinases ✗
- d. ~~modification dépendante~~
- e. interaction aux protéines effectrices ✗

Les molécules de signalisation :

- a. peuvent être de nature hydrophile ou hydrophobe ✓
- b. sont libérées par exocytose ou diffusion simple ✓
- c. sont toujours interceptées par des récepteurs membranaires ✗
- d. agissent sur des protéines des cellules cibles ✓
- e. induisent toujours une modification du cytosquelette ✗

Le récepteur de l'insuline :

- a. est une glycoprotéine transmembranaire dimérique ✓
- b. présente 2 chaînes α portant chacune 2 sites de fixation de l'insuline ✗
- c. présente 2 chaînes β portant 4 domaines d'autophosphorylation
- d. activé, induit la glycogénolyse dans la cellule hépatique ✗
- e. inhibé, peut stimuler l'exocytose des vésicules à Glut4

Les composants de la jonction neuromusculaire sont les:

- a. canaux Ca^{++} potentiels dépendants ✓
- b. canaux Ca^{++} sarcoplasmiques ✓
- c. récepteurs nicotiniques ✓
- d. canaux Na^+ ligands dépendants ✓
- e. canaux Na^+ voltage dépendants ✓

QUESTION VI QCS: Répondre par vrai ou faux . Une réponse fausse annule une réponse juste

1. Les pompes Na^+ / K^+ rétablissent l'équilibre ionique en consommant de l'ATP. ✓
2. Les perméabilités aux molécules de glucose peuvent être actives et passives. ✓ ^{selut} ^{glut}
3. Dans les adipocytes le glucose diffuse vers les capillaires par des GLUT 2. ✓ ⁴
4. La voie d'entrée des lipoprotéines de faible densité est une endocytose clathrine dépendante. ✓
5. L'adénylate cyclase peut interagir avec une sous unité de la protéine G et l'ATP. ✓
6. La libération du Ca^{++} sarcoplasmique est dépendante de la dépolarisation membranaire. ✓
7. Les N CAM sont des protéines d'adhésivité soit transmembranaires soit ancrées par GPI. ✓